

# UNTERSUCHUNGEN ZUM LIPID- STOFFWECHSEL UND FETTSÄUREPROFIL BEI PATIENTEN MIT SCHIZOPHRENER ERSTMANIFESTATION

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Christian Fleischer

geboren am 09. September 1988 in Neubrandenburg

### **Gutachter**

- 1. Prof. Dr. med. habil. Stefan Smesny, Jena**
- 2. PD Dr. rer. nat. et med. habil. Uta-Christina Hipler, Jena**
- 3. Prof. Dr. Paul Amminger, Melbourne**

**Tag der öffentlichen Verteidigung: 02.12.2019**

## **Abkürzungsverzeichnis**

Abk.	Erklärung
AA	Arachidonsäure
ALA	Alpha-Linolensäure
AQP10	Aquaporin 10
COX	Cyclooxygenase
cPLA <sub>2</sub>	Cytosolische Phospholipase A <sub>2</sub>
DA <sub>2</sub>	Diacylglycerid
DGLA	Dihomogammalinolensäure
DHA	Docosahexaensäure
DPA	Docosapentaensäure
EFA	Essential Fatty Acid, essentielle Fettsäure
EPA	Eicosapentaensäure
EPUFA	Essential polyunsaturated fatty acid, essentielle mehrfach ungesättigte Fettsäure
FA	Fatty Acid, Fettsäure
FAME	Fatty acid methyl ester, Fettsäuremethylester
FATP1	Fatty acid transport protein 1, Fettsäuretransportprotein 1
GAP	GTPase-activating proteins, GTPase-aktivierende Proteine
GLA	Gamma- Linolensäure
HCL	Hydrogenchlorid
HDL	High-density lipoprotein
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
ICD-10	International Classification of Diseases, 10. Auflage
iPLA <sub>2</sub>	Intrazelluläre, kalziumunabhängige Phospholipase A <sub>2</sub>
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
K <sup>+</sup>	Kaliumion
LA	Linolsäure
LCAT	Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase
LDL	Low-density lipoprotein
MCFA	Medium Chain Fatty Acid (C6-C14), mittellangkettige Fettsäure
ml	Milliliter
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
MUFA	Monounsaturated Fatty Acid, einfach ungesättigte Fettsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
μl	Mikroliter
N <sub>2</sub>	Stickstoff

n3-FA	Omega-3 Fettsäure
n6-FA	Omega-6 Fettsäure
NA	Nervonsäure
NaCl	Natriumchlorid
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale
PC	Phosphatidylcholin
PDE	Phosphodiester
PE	Phosphatidylethanolamin
PI	Phosphatidylinositol
PME	Phosphomonoester
PS	Phosphatidylserin
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acid, mehrfach ungesättigte Fettsäure
RBC	Red Blood Cells, Erythrozyten
RCT	Randomisierte kontrollierte Studie
rpm	Rounds per minute, Umdrehungen pro Minute
SFA	Saturated Fatty Acid, gesättigte Fettsäure
SM	Sphingomyelin
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography
sPLA <sub>2</sub>	Sekretorische Phospholipase A <sub>2</sub>
SD	Standardabweichung (standard deviation)
TAG	Triacylglycerin
tFA	Trans Fatty Acid, trans-Fettsäure
THC	Tetrahydrocannabinol
VLDL	Very-low-density lipoprotein
ZNS	Zentrales Nervensystem

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>3</b>
2.1	Thematische Einführung .....	3
2.2	Ziele der Arbeit .....	4
2.3	Hypothesen .....	5
<b>3</b>	<b>Grundlagen.....</b>	<b>5</b>
3.1	Die schizophrene Psychose .....	5
3.1.1	Historischer Überblick.....	5
3.1.2	Epidemiologie und Soziodemographie.....	6
3.1.3	Symptome und Subtypen.....	6
3.1.4	Diagnostik .....	8
3.1.5	Verlauf.....	9
3.1.6	Ätiologie und Pathogenese .....	10
3.1.6.1	Makroskopische hirnmorphologische Veränderungen .....	10
3.1.6.2	Vulnerabilitäts-Stress-Modell und assoziierte biologische Befunde .....	11
3.1.6.3	Die Membranlipidhypothese .....	12
3.1.6.4	Zur Rolle der Phospholipase A <sub>2</sub> bei schizophrenen Erkrankungen .....	13
3.2	Lipidmetabolismus .....	14
3.2.1	Der Aufbau biologischer Membranen .....	14
3.2.2	Aufnahme von Lipiden aus der Nahrung .....	16
3.2.3	Der Stoffwechsel der Lipoproteine .....	17
3.2.4	Biochemie der Fettsäuren .....	18
3.2.5	Bedeutung der PUFA im Stoffwechsel des Gehirns .....	21
3.2.6	Bedeutung der Transfettsäuren .....	22
<b>4</b>	<b>Methodik.....</b>	<b>23</b>
4.1	Studienaufbau .....	23
4.1.1	Studiengruppen und Untersuchungsprogramm .....	23
4.2	Gewinnung und Präanalytik der Proben .....	24

4.2.1	Benötigte Materialien .....	24
4.2.2	Prozedere .....	25
4.3	Lipidextraktion aus Plasma und Erythrozyten nach der „Mini-Folch“ Methode .....	25
4.3.1	Prinzip .....	25
4.3.2	Benötigte Materialien .....	26
4.3.3	Prozedere .....	26
4.4	Dünnschichtchromatographie .....	27
4.4.1	Prinzip .....	27
4.4.2	Benötigte Materialien .....	28
4.4.3	Prozedere .....	28
4.5	Extraktion der Lipide aus der Kieselgelmatrix .....	30
4.5.1	Prinzip .....	30
4.5.2	Benötigte Materialien .....	30
4.5.3	Prozedere .....	31
4.6	Methylierung .....	31
4.6.1	Prinzip .....	31
4.6.2	Benötigte Materialien .....	32
4.6.3	Prozedere .....	32
4.7	Gaschromatographie und Auswertung .....	33
4.8	Statistische Auswertung .....	34
<b>5</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>35</b>
5.1	Unterschiede der Fettsäurekonzentrationen zwischen Patientengruppe und Kontrollgruppe	35
5.1.1	Triacylglyceride des Plasmas .....	35
5.1.2	Cholesterolester des Plasmas.....	37
5.1.3	Phospholipide des Plasmas .....	38
5.1.4	Sphingomyelin der Erythrozytenmembran.....	40
5.1.5	Phosphatidylethanolamin der Erythrozytenmembran .....	41
5.2	Korrelationsanalyse .....	42
5.2.1	Gesättigte Fettsäuren (SFA) .....	43
5.2.2	Einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA).....	43

5.2.3	Mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA).....	44
5.2.4	Omega-6-Fettsäuren (n6-FS).....	44
5.2.5	Omega-3-Fettsäuren (n3-FS).....	44
5.2.6	Transfettsäuren (TFA).....	45
<b>6</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>46</b>
6.1	Hauptbefunde .....	46
6.2	Diskussion der Hauptbefunde vor dem Hintergrund der aktuellen Forschungslage .....	46
6.2.1	PUFA-Alterationen bei Patienten mit Schizophrenie.....	46
6.2.2	Mögliche Ursachen und Implikationen des Arachidonsäure-Defizits.....	49
6.2.3	PUFA-Defizite und der Einflussfaktor Ernährung .....	53
6.2.4	Korrelationsbefunde unterschiedlicher Fett-Fraktionen .....	54
6.2.6	Ernährung und therapeutische Aspekte .....	56
6.3	Methodenkritik .....	57
<b>7</b>	<b>Schlussfolgerungen .....</b>	<b>58</b>
<b>8</b>	<b>Literatur- und Quellenverzeichnis .....</b>	<b>60</b>
<b>9</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>68</b>
9.1	Vollständige Tabellen der Mittelwertvergleiche der Fettsäureprofile.....	68
9.1.1	Triacylglyceride.....	68
9.1.2	Cholesterolester .....	70
9.1.3	Phospholipide .....	72
9.1.4	Sphingomyelin.....	74
9.1.5	Phosphatidylethanolamin .....	76
9.2	Korrelationsanalyse .....	77
9.2.1	Gesättigte Fettsäuren .....	77
9.2.2	Einfach ungesättigte Fettsäuren.....	78
9.2.3	Mehrfach ungesättigte Fettsäuren.....	79
9.2.4	Omega-6-Fettsäuren .....	80
9.2.5	Omega-3-Fettsäuren .....	81
9.2.6	Transfettsäuren .....	82
9.3	Parameterdaten der Gaschromatographen.....	83

---

9.3.1	GC-3 .....	83
9.3.2	GC-4 .....	84
9.4	Danksagung .....	85
9.5	Tabellenverzeichnis .....	86
9.6	Abbildungsverzeichnis .....	87
9.7	Ehrenwörtliche Erklärung .....	88



# **1 Zusammenfassung**

*Hintergrund:* Trotz intensiver Forschung ist die Ätiopathogenese schizophrener Erkrankungen noch nicht umfassend verstanden. Einen Erklärungsmechanismus bietet die Membran-Phospholipid-Hypothese. Diese gesteht den Phospholipiden und den in ihnen inkorporierten mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) aufgrund ihrer vielfältigen Funktionen im zentralen Nervensystem (ZNS), wie beispielsweise als Bestandteil der Biomembranen und der Beteiligung an neuronalen Signalkaskaden eine essentielle und ursächliche Rolle in der Krankheitsentstehung zu. So zeigten bereits vorangegangene Untersuchungen Alterationen im PUFA- Stoffwechsel bei schizophrenen Patienten. Das Ausmaß und die Richtung der gefundenen Differenzen im Vergleich mit gesunden Personen sind jedoch uneinheitlich. Im Gegensatz zu anderen Studien, die sich meist auf mit Neuroleptika behandelte, schizophrene Patienten in einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium beziehen, untersucht die vorliegende Fall-Kontroll-Studie neuroleptisch unbehandelte Patienten in der frühen Akutmanifestation schizophrener Erkrankungen.

*Ziel:* Ziel der vorliegenden Studie war es, die Fettsäurenverteilung in den Plasmalipidfraktionen der Triacylglyceride, Cholesterolester und der Phospholipide sowie der Phosphatidylethanolamin- und Sphingomyelinfraktion der Erythrozytenmembran zwischen Patienten in der frühen Akutmanifestation schizophrener Erkrankungen und gesunden Kontrollpersonen zu vergleichen. Durch die Analyse verschiedener Lipidfraktionen und deren unterschiedliche Nahrungsabhängigkeit sollte ein im Vergleich zu anderen Studien differenzierterer Einblick in den Fettsäurehaushalt schizophrener Patienten mit akuter Erstmanifestation gewonnen werden. Insbesondere von der Analyse der Sphingomyelinfraktion erhofften wir uns, einen tieferen Einblick in den Neurostoffwechsel schizophrener Patienten zu erhalten. Darüber hinaus sollte eine Korrelationsanalyse verschiedener Summenwerte der untersuchten Lipidfraktionen weitere Auffälligkeiten im Lipidstoffwechsel schizophrener Patienten detektieren und insbesondere den Umfang der Ernährungsabhängigkeit der Befunde beleuchten.

*Methode:* Die Fall-Kontrollstudie umfasste eine gruppenparallelisierte Stichprobe von 32 schizophrenen Patienten und 33 gesunden Kontrollpersonen. Die Lipide wurden zunächst aus Plasma und Erythrozyten extrahiert. Die Plasma-Triacylglyceride (TAG), Plasma-Cholesterolester (CE), Plasma-Phospholipide (PL) sowie die Phosphatidylethanolamin (PE) -und Sphingomyelin (SM)-Fraktion aus den Erythrozytenmembranen wurden mittels Dünnschichtchromatographie und unter Verwendung eines internen Standards isoliert. Die in den Fraktionen enthaltenen Fettsäuren wurden durch Zugabe methanolischer Salzsäure methyliert und mittels Gaschromatographie detektiert und quantifiziert.

*Ergebnisse:* Zusammenfassend kann man bei der Auswertung der eher ernährungsabhängigen Plasmalipidfraktionen feststellen, dass die Patienten im Trend höhere Konzentrationen an Omega-3 (n3)-Fettsäuren zu verzeichnen haben, während sie bei den Omega-6 (n6)-Fettsäuren Defizite gegenüber den Kontrollprobanden aufwiesen. Am deutlichsten war dieser Unterschied in den

Fraktionen der Cholesterinester und Phospholipide. Nach Auswertung der ernährungsunabhängigen SM- und PE-Fraktion der Erythrozytenmembran ließen sich signifikant verminderte Werte einzelner (z.B. Dihomogammalinolensäure (DGLA) und Arachidonsäure (AA) in SM-Fraktion) bzw. im Trend aller n6-FS bei den Patienten feststellen. Außerdem finden sich in der SM-Fraktion geringere Werte für trans-Fettsäuren bei Patienten. Die Korrelationsanalyse ergab weitere Hinweise auf einen veränderten Lipidmetabolismus bei schizophrenen Erkrankten. So korrelieren die Omega-6-Fettsäuren nur bei Gesunden physiologischerweise signifikant positiv zwischen ernährungsabhängigen und ernährungsunabhängigen Lipidfraktionen, während bei der Korrelationsanalyse der Omega-3-Fettsäuren keine Gruppenunterschiede zu detektieren waren.

*Schlussfolgerung:* Im Einklang mit der aktuellen Studienlage zeigten sich bei der Fettsäureanalyse Konzentrationsunterschiede, insbesondere bei mehrfach ungesättigten Fettsäuren, zwischen Patienten und Kontrollprobanden, die nicht ausreichend durch unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten erklärbar sind. Durch die Analyse der Sphingomyelinfraktion der Erythrozytenmembran wurde der Versuch unternommen, einen Einblick in den Lipidstoffwechsel der weißen Substanz im zentralen Nervensystem zu erhalten. Die in dieser Fraktion signifikant verminderte Arachidonsäurekonzentration bei Patienten stellt einen möglichen pathogenetischen Faktor der Schizophrenie dar, welcher insbesondere die bereits bestehende Evidenz zu unspezifischen Entzündungsprozessen und Abweichungen von Immunfunktionen bei schizophrenen Erkrankungen ergänzt. Weitere Studien sind erforderlich, um diesen Zusammenhang zu verifizieren.

## **2 Einleitung**

### **2.1 Thematische Einführung**

Die Schizophrenien gehören mit schätzungsweise 24 Millionen weltweit Erkrankten (nach WHO Report 2001) zu den weltgesundheitlich größten Problemen (Perala et al., 2007). Aufgrund des meist chronischen Verlaufs leiden viele Patienten oft lebenslang an sozialer Isolation und deutlicher Einschränkung ihrer Lebensqualität. Derzeitige antipsychotische Medikation führt bei 50-68% der Patienten zumindest hinsichtlich der Positivsymptomatik (Wahn, Halluzinationen etc.) zu einem positiven Outcome, während bei 30-60% der Patienten zwar eine Linderung eintritt, jedoch ein Großteil der Negativsymptomatik (kognitive Funktionsstörungen od. Antriebsdefizite) erhalten bleibt (Skosnik & Yao, 2003). Diese derzeit noch ineffektiven Therapiemaßnahmen sind zum Teil durch die, trotz intensiver Forschung, bisher nicht im Detail geklärten Pathomechanismen der Erkrankung bedingt. Ursächlich gilt für die Entstehung der Schizophrenie ein Zusammenspiel aus genetischer Veranlagung und beeinflussenden Umweltfaktoren als anerkannt (Vulnerabilitäts-Stress-Modell). Verschiedenste Theorien versuchen, die zugrunde liegenden Pathomechanismen zu entschlüsseln, die zu dem klinischen Erscheinungsbild der Schizophrenien führen. Eine dieser Theorien, die auch dem Untersuchungsansatz der vorliegenden Arbeit zugrunde liegt, ist die Membranlipidhypothese von David F. Horrobin. Auf der Suche nach einem biochemischen Korrelat der Schizophrenien erkannte er, dass Patienten erniedrigte Prostaglandinspiegel aufweisen (Horrobin, 1977), seltener inflammatorische (z.B. rheumatische) Erkrankungen und Fieber entwickeln und resistenter gegen Schmerzreize sind (Horrobin, 1998). Dies führte ihn zu der Überlegung, dass Alterationen im Stoffwechsel von mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die als Vorläufer für die Prostaglandine fungieren, mit der Erkrankung verknüpft sein könnten.

Lipide machen ~60% des Gehirntrockengewichts aus (O'Brien & Sampson, 1965), bilden den Hauptbestandteil von Membranen und Axonen, dienen zum Teil als Signalmoleküle, nehmen direkten Einfluss auf die sie umgebenden Rezeptoren und Kanäle in der Membran und beeinflussen somit die neuronale Aktivität sowie den Neurotransmitterstoffwechsel (Horrobin, Glen, & Vaddadi, 1994). Die Membranlipidhypothese von Horrobin ist bis heute bedeutsam geblieben, weil sie – ausgehend von einem biochemischen Ansatz – integratives Potential bietet, um die mit der Erkrankung verbundenen hirmorphologischen Veränderungen, gestörten Neurotransmitterstoffwechsel und die vielen anderen Begleitphänomene (s.o.) in einem schlüssigen Zusammenhang zu betrachten und zu untersuchen.

Motiviert durch dieses Konzept wurden verschiedene Gewebe auf deren Fettsäureprofil hin untersucht, wobei sich vor allem die Analyse von Erythrozytenmembranen als praktikabel erwiesen hat, da sie in ihrer Zusammensetzung der von Neuronen ähnelt (Assies et al., 2001). Konsistent wurden erniedrigte Konzentrationen von PUFA bei Patienten gefunden, im speziellen der Arachidonsäure (AA) und Docosahexaensäure (DHA) (Hoen et al., 2013). Auch MR-basierte Methoden (<sup>31</sup>P-Magnetresonanzspektroskopie), Enzymanalysen (v.a. PLA<sub>2</sub>) und therapeutisch erfolgreiche

Nahrungsergänzungstudien (Omega-3 FS, Eicosapentaensäure (EPA) Docosahexaensäure (DHA)) deuten auf Anomalien im Membranstoffwechsel bei schizophrenen Patienten hin.

## **2.2 Ziele der Arbeit**

In der vorliegenden Arbeit werden Fettsäureprofile aus Plasma und Erythrozyten von nicht antipsychotisch vorbehandelten (Neuroleptika-naïven) schizophrenen Patienten in der akuten Erstmanifestation analysiert. In Abgrenzung zu einem Großteil anderer Studien werden die Lipide in dieser Untersuchung in Subfraktionen aufgetrennt, um eine differenzierte Fettsäureanalyse durchführen zu können. Daraus sollen, unter Rücksichtnahme auf die physiologischen und biochemischen Grundlagen des Lipidstoffwechsels im Gehirn, Rückschlüsse auf die interne Regulation und die Ernährungsabhängigkeit der gemessenen Fettsäuren gezogen werden. Es werden aus dem Plasma die Fettsäureprofile der Triacylglyceride (TAG), Cholesterolester (CE) und Phospholipide (PL), sowie aus den Erythrozytenmembranen die Fettsäureprofile der Phosphatidylethanolaminfraktion (PE) und des Sphingomyelins (SM) analysiert. Eine weitere Besonderheit stellt das hier untersuchte Patientenkollektiv dar, das aufgrund des geringen Zeitfensters seit dem akuten Erkrankungsbeginn, der geringen Auffindungsrate im Hilfesystem und der erschwerten Einbindung in klinische Studien bis heute nur selten Gegenstand von Untersuchungen war. Die gewonnenen Daten werden mit einem nach Alter und Geschlecht sowie Lebensstil gruppenparallelisierten gesunden Kontrollkollektiv verglichen. Ziel der Arbeit ist es, einen differenzierten Einblick in den Lipidstoffwechsel schizophrener Patienten in der akuten Erstmanifestation zu erlangen, um einen etwaigen Beitrag von Störungen im Lipidstoffwechsel zur Pathogenese schizophrener Erkrankungen aufdecken und besser verstehen zu können. Insbesondere durch die Analyse der Fettsäurezusammensetzung in der Sphingomyelinfraktion erhoffen wir uns neue Erkenntnisse zur den bislang ungeklärten strukturellen Anomalien in weißer Hirnsubstanz bei schizophrenen Patienten. Da durch eine frühe Identifizierung und Therapie (gegenwärtig große Studien mit Omega-3-Fettsäuren Substitution unter Beteiligung der eigenen Arbeitsgruppe) von prädisponierten (Risiko-)Personen für psychotische Erkrankungen eine Verbesserung der Gesamtprognose der später ggf. manifesten Schizophrenie erwartet werden kann, kommt der Klärung membranbiochemischer Pathomechanismen auch im Rahmen der aktuellen Früherkennungsfahndung und indizierten Prävention eine hohe Bedeutung zu.

## **2.3 Hypothesen**

1. Schizophrene Patienten in der akuten Erstmanifestation zeigen als pathobiochemisches Korrelat ihrer Erkrankung Alterationen im Lipidstoffwechsel, welche vorzugsweise in ernährungsunabhängigen Lipidfraktionen zu erwarten sind. Die Alterationen betreffen daher Lipidfraktionen von Erythrozytenmembranen (weniger ernährungsabhängig), die im Gehirn als Strukturbausteine bedeutsam sind, sowie Fettsäuregruppen (PUFA), die als Vorstufen für Eicosanoide (e.g. Prostaglandine) dienen.
2. Ausgehend von den Strukturabweichungen in weißer Hirnsubstanz bei schizophren Erkrankten sind Abweichungen im Fettsäureprofil der Sphingomyelinfraktion zu erwarten, auch hier mit Schwerpunkt auf mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA).
3. Da dem menschlichen Organismus die Enzyme fehlen, Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren de novo zu synthetisieren, sollten die Konzentrationen dieser Fettsäuren in den ernährungsabhängigen Lipidfraktionen mit den Konzentrationen in den ernährungsunabhängigen Lipidfraktionen positiv assoziiert sein (positive Korrelation).

## **3 Grundlagen**

### **3.1 Die schizophrene Psychose**

#### **3.1.1 Historischer Überblick**

Die erste Beschreibung der Schizophrenie als eigene Krankheitsentität geht auf E. Kraepelin aus dem Jahr 1898 zurück. Er bemerkte die Gemeinsamkeiten der Patienten mit Katatonie, Hebephrenie und „paranoider Demenz“, welche vor allem durch den Krankheitsbeginn in jungen Jahren, die Tendenz zur Verschlechterung („deterioration“) und durch Demenz und „mental dullness“ im späteren Verlauf charakterisiert waren. Er vereinte diese Verläufe unter dem Namen „dementia praecox“ (Tandon, Nasrallah, & Keshavan, 2009). Eine Charakterisierung verschiedener Verläufe, z.T. auch mit der Chance auf Besserung oder ein generell besseres Outcome, und auch den heute gebräuchlichen Begriff der Schizophrenie brachte Eugen Bleuler um 1911 ein. Er definierte die 4 heute noch diagnostisch relevanten Grundsymptome der Assoziationsstörungen (Störungen im Gedankenfluss), Affektivitätsstörungen (u.a. Parathymie), der Ambivalenz (d.h. der Entscheidungsschwäche hinsichtlich innerer Pro/Contra-Konflikte) und des Autismus (Rückzug in eine eigene, oft realitätsferne Welt), die bei jedem Patienten vorhanden seien. Zusätzlich definierte er eine Reihe von akzessorischen Symptomen, u.a. Wahn und Halluzinationen. Eine bedeutsame Weiterentwicklung zu Bleulers Konzept stellte 1959 Kurt Schneider vor, indem er versuchte, durch die Definition von Symptomen ersten (z.B. Wahnwahrnehmungen, Ich-Störungen, dialogisierende/imperative akustische Halluzinationen, Leibhalluzinationen) und zweiten Ranges (sonstige Halluzinationen aller

Sinnesqualitäten, Körperwahrnehmungsstörungen i.S. von Coenästhesien, einfache Eigenbeziehung, Wahneinfall) eine gewisse Systematisierung bei der Diagnostik der Schizophrenie einzuführen (Möller et al., 2005). Die Erkenntnisse der genannten Wissenschaftler nehmen auch im heutigen Konzept der Schizophrenie noch eine wichtige Stellung ein, so auch in der vorliegenden Arbeit. Bleulers Grundsymptome werden heute überwiegend der „Negativsymptomatik“ zugeordnet, während Schneiders Symptome ersten Ranges der „Positivsymptomatik“ zugeordnet werden. Auch die Verlaufsbeschreibung von Kraepelin spielt noch immer eine Rolle bei der Diagnostik der Schizophrenie nach heutigem Stand (Tandon et al., 2009).

### 3.1.2 Epidemiologie und Soziodemographie

Epidemiologische Kennzahlen für die schizophrene Psychose sind aufgrund weltweit uneinheitlicher Diagnosekriterien nur unter Vorbehalt festzusetzen. In einer 10- Länder Studie der WHO wurde nach ICD-9 Kriterien eine 1-Jahresinzidenz von 16-40/100.000 herausgearbeitet (Jablensky et al., 1992). Um genauere Zahlen zu erhalten, führten McGrath et al. 2004 eine Metaanalyse von 55 Studien aus 33 Ländern durch und erhielten eine mediane Inzidenzrate von 15,2/100.000. Auch bei der Punktprävalenz differieren die Daten, je nach Studie von 1,4 bis 4,6/1000 (Jablensky, 2000). Laut einer finnischen Studie von Perala et al., die nach DSM-IV Kriterien strukturierte Interviews bei 8029 Personen führte, ergibt sich eine Lebenszeitprävalenz von 1,25% (0,87% für Schizophrenie, 0,32% für schizoaffektive Störungen, 0,07% für schizophrenieforme Störungen), wobei Männer in Relation zu Frauen ein 1,42fach höheres relatives Risiko aufweisen (Aleman, Kahn, & Selten, 2003; Perala et al., 2007). Damit stellen diese Störungen nicht nur eine erhebliche Beeinträchtigung der Gesundheit und des Funktionsniveaus, sondern aufgrund langer Hospitalisierungs- und Medikationsdauer auch ein enormes finanzielles Problem für das Gesundheitssystem dar. Der Altersgipfel für die akute Erstmanifestation liegt zwischen 20 und 35 Jahren, wobei Männer im Mittel mit 26,7 Jahren, Frauen hingegen mit 30,1 Jahren erkranken. Zusätzlich zeigen Frauen ab der Menopause einen zweiten Häufigkeitsgipfel, wohingegen bei Männern die Häufigkeit der Erstmanifestation nach dem 35. Lebensjahr immer geringer wird (Häfner & an der Heiden, 1997; Hambrecht, Maurer, Häfner, & Sartorius, 1992). Verantwortlich für diese Unterschiede scheint eine Inhibition des dopaminergen Systems durch das weibliche Geschlechtshormon Östrogen zu sein, dessen Präsenz das spätere Erkrankungsalter und den zweiten Häufigkeitsgipfel durch niedrigere Spiegel nach der Menopause bedingt (Gattaz, Behrens, De Vry, & Häfner, 1992).

### 3.1.3 Symptome und Subtypen

Schizophrene Erkrankungen sind durch das Auftreten verschiedener Symptomcluster gekennzeichnet, die charakteristische Störungen des Denkens und der Wahrnehmung, kognitive Beeinträchtigungen, motorische Abnormalitäten, Antriebsarmut und Apathie, Kommunikationsstörungen und verminderte

Affektivitätsexpression beinhalten, in ihrer Ausprägung und im Verlauf der Erkrankung aber interindividuell variieren können (Tandon et al., 2009). Aus der ausgeprägten Variabilität der Symptomatik ergab sich die Unterteilung verschiedener Subtypen (sog. Prägnanztypen), die sich je nach verwendetem Klassifikationssystem unterscheiden und bei ein und demselben Patienten im Verlauf der Erkrankung ineinander übergehen können.

Klassifikation der Subtypen schizophrener Erkrankungen nach ICD-10:

- Paranoide Schizophrenie (F20.0)
- Hebephrener Typ (F20.1)
- Katatone Schizophrenie (F20.2)
- Undifferenzierte Schizophrenie (F20.3)
- Postschizophrene Depression (F20.4)
- Schizophrenes Residuum (F20.5)
- Schizophrenia simplex (F20.6)

Das Patientenkollektiv in dieser Arbeit wies ausnahmslos schizophrene Psychosen vom paranoid-halluzinatorischen Typ auf, weshalb auf dessen klinische Ausprägung im Folgenden genauer eingegangen werden soll. Es handelt sich dabei um den häufigsten Prägnanztyp schizophrener Erkrankungen, der durch das Auftreten von überwiegender Positivsymptomatik (s.o.), welche meistens im frühen Erwachsenenalter akut einsetzt, gekennzeichnet ist. Die halluzinatorische Komponente besteht hierbei zumeist in der Wahrnehmung imperativer, dialogisierender und/oder kommentierender Stimmen. Des Weiteren entwickeln die Patienten Wahnideen, d.h. mehr oder minder ausgestaltete realitätsferne Fehlurteile, die für sie beweislos unabänderlich zutreffend erscheinen. Charakteristisch für diesen Subtyp ist z.B. ein bizarrer Beeinträchtigungs- oder Verfolgungswahn, der die Patienten davon überzeugt sein lässt, Opfer von Spionage und Vergiftungs- bis Tötungsversuchen zu sein. Andere Wahnideen können z.B. als Beziehungs- oder Eifersuchtswahn, hypochondrischer oder Größenwahn auftreten. Als drittes Kardinalsymptom der paranoid-halluzinatorischen Schizophrenie treten Ich-Störungen auf. Dabei wird „die Grenze zwischen Ich und Umwelt als durchlässig empfunden, Gedanken und Gefühle oder Teile des Körpers werden als fremd (Depersonalisation) bzw. die Umwelt als andersartig erlebt (Derealisation)“ erlebt (Möller et al. 2005). Die eigenen Gedanken des Patienten scheinen sich für ihn im Raum auszubreiten und von den Mitmenschen mitgehört zu werden (Gedankenausbreitung, Gedankenentzug). Zusätzlich hat der Patient das Gefühl, dass Teile seiner Handlungen und Gedanken fremdgesteuert sind (Gedankeneingebung, Fremdbeeinflussung). Ursächlich für die Positivsymptomatik wird eine hyperdopaminerge Aktivität im mesolimbischen System angenommen (Dopaminhypothese (Howes & Kapur, 2009)). Gestützt wird diese These durch die deutliche Linderung der Symptomatik durch Dopaminrezeptorantagonisten (Henn, 1978; Ohara, 2007). Die Negativsymptomatik, wie Affektverflachung, Apathie, Aufmerksamkeitsstörungen und Katatonie, ist beim paranoid-halluzinatorischen Prägnanztyp auch vorhanden, aber initial meist weniger vordergründig.

### 3.1.4 Diagnostik

Die Grundpfeiler der Diagnostik einer Schizophrenie bestehen aus Anamnese incl. einer sorgfältigen psychopathologischen Exploration sowie der körperlichen Untersuchung. In Tabelle 2 sind die Kriterien der ICD-10 zur Diagnostik einer Schizophrenie aufgelistet. Entscheidend ist eine gewisse Dauer der Psychopathologie, die bei der Diagnose nach ICD-10 mindestens einen Monat betragen muss und vorwiegend die Positivsymptomatik betrachtet. Zum Ausschluss von exogenen Ursachen, wie Drogenabusus inkl. Entzugssymptomatik oder des Vorliegens einer organischen Hirnerkrankung, muss sich eine laborchemische und apparative Diagnostik (v.a. cCT oder MRT) anschließen.

Tabelle 1: *Allgemeine Diagnosekriterien von Schizophrenien nach ICD-10*

mindestens eines der Merkmale  1-4 *	1	Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung, Gedankenentzug oder Gedankenausbreitung.
	2	Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten deutlich bezogen auf Körper- oder Gliederbewegungen, bestimmte Gedanken, Tätigkeiten, Empfindungen; Wahrnehmungen.
	3	Kommentierende oder dialogische Stimmen, die über die Patienten reden oder andere Stimmen, die aus bestimmten Körperteilen kommen.
	4	Anhaltender kulturell unangemessener, bizarrer Wahn.
oder		
	5	Anhaltende tägliche Halluzinationen jeder Sinnesmodalität über die Dauer mindestens eines Monats, begleitet von flüchtigen oder undeutlichen Wahngedanken ohne deutliche affektive Beteiligung oder von lang anhaltenden überwertigen Ideen.
	6	Neologismen, Gedankenabreißen, Zerfahrenheit oder Danebenreden.
	7	katatone Symptome, wie Erregung, Haltungsstereotypen oder wächserne Biegsamkeit (Flexibilitas cerea), Negativismus, Mutismus, Stupor.
mindestens zwei der Merkmale  5-8 *	8	Apathie, Sprachverarmung, verflachter oder inadäquater Affekt (nicht durch Depression bzw. Neuroleptika verursacht).

\* Zur Erfüllung der Kriterien müssen die Merkmale während einer psychotischen Phase, die mindestens einen Monat andauert, häufig auftreten.

Für die Quantifizierung der psychopathologischen Symptome hat sich der Einsatz von speziellen Ratingskalen bewährt. Regelmäßige Verwendung finden z.B. die Scale of Assessment of Positive Symptoms (SAPS, Andreasen 1984) und die Scale of Assessment of Negative Symptoms (SANS, Andreasen 1983), die sich z.B. zur Verlaufskontrolle der Erkrankung oder zur Beurteilung und Vergleichbarkeit der „Krankheitsschwere“ in klinischen Studien eignen. Diese operationalisierten Testinstrumente wurden auch bei den hier untersuchten Patienten eingesetzt, wobei die individuellen Scores nicht Gegenstand der vorgelegten Studie sind.



### 3.1.5 Verlauf

Personen, die im Verlauf ihres Lebens eine Schizophrenie entwickeln, leiden oftmals bereits viele Jahre vor Ausbruch der Erkrankung an kognitiven und emotionalen Beeinträchtigungen sowie Verhaltensstörungen, in vielen Fällen bereits im Kindesalter, wodurch es häufig zu einem Mangel an Bildung und sozialen Kontakten kommt (Schenkel & Silverstein, 2004). Dieser Abschnitt wird als prämorbide Phase bezeichnet und korreliert in der Ausprägung seiner Symptome mit dem Zeitpunkt des Auftretens der ersten Psychose und der späteren Schwere von Negativsymptomatik und kognitiven Störungen (Schmael et al., 2007). Zu beachten ist jedoch, dass das Auftreten von Prodromalsymptomen keinesfalls pathognomonisch für einen tatsächlichen Übergang in die akute Erkrankungsphase bzw. die spätere Ausprägung der Schizophrenie ist. Prodromalsymptome variieren in Ausprägung und Stärke und sind retrospektiv oftmals schwer zu explorieren. Die Phase, die der ersten akut psychotischen Episode vorausgeht, wird daher aus prospektiver Perspektive auch als Hochrisikophase (ultra-high risk, UHR) bezeichnet. Sie ist durch unterschwellige psychotische Symptome, kognitive Defizite und Negativsymptomatik gekennzeichnet (Cornblatt, Obuchowski, Roberts, Pollack, & Erlenmeyer-Kimling, 1999). Sie dauert im Durchschnitt 5 Jahre (Hafner & an der Heiden, 1999) an, wobei die produktiven Symptome circa ein Jahr vor dem ersten Klinikaufenthalt zunehmen. In den letzten Jahren wird der Frühdetektion dieser sogenannten UHR-Patienten viel Aufmerksamkeit geschenkt, da man durch einen früheren Behandlungsbeginn die Prognose des späteren Krankheitsverlaufs deutlich verbessern kann (Loebel et al., 1992). Hierbei stellt die Suche nach biologischen Alterationen mit prädiktivem Aussagewert einen wichtigen Forschungsschwerpunkt dar, da hierdurch Patienten mit erhöhtem Psychoserisiko zuverlässiger als bisher erfasst und im Rahmen der indizierten Prävention ggf. milden, z.B. neuroprotektiven Therapiemöglichkeiten, zugeführt werden könnten. Außerdem könnten auf diese Weise biologische Frühsymptome ohne den störenden Einfluss einer (späteren) neuroleptischen Pharmakotherapie erforscht werden. Die Untersuchung biologischer Abweichungen im Bereich der Membranbiochemie vor dem Einsetzen von Medikationseffekten, aber bereits im Akutstadium der Erkrankung, ist Anliegen der vorliegenden Arbeit.

Im Rahmen dieser ersten Akutmanifestation der Positivsymptomatik (Halluzinationen, Wahn, desorganisierte Sprache und Verhalten, Ich- Störungen) werden die Patienten meistens auch zum ersten Mal stationär psychiatrisch behandelt. Es kommt zur Diagnose der ersten schizophrenen Episode. Im Anschluss an diese Phase nehmen die produktiven Symptome durch das meist gute Ansprechen auf antipsychotisch wirksame Medikamente (Neuroleptika) schnell ab, während die Negativsymptomatik mit wechselnder Intensität fortbestehen bzw. in den Vordergrund geraten kann (Residualsymptomatik). Der mittel- bis langfristige Verlauf variiert in hohem Maße in Abhängigkeit von der Aktivität der Erkrankung in Bezug auf Episodenfrequenz und Residualsymptomatik (Modestin, Huber, Satirli, Malti, & Hell, 2003) und ist zum Teil von der Krankheitseinsicht und Medikamenten-Compliance abhängig. Mehrheitlich wechseln akute psychotische Episoden unterschiedlicher Schwere und Dauer mit Remissionen oder vornehmlich negativsymptomatischen

Residualsyndromen ab (Andreasen et al., 2005). Psychotische Exazerbationen können durch Stress, Ablehnung der Medikation oder Substanzabusus getriggert werden (Tandon et al., 2009). Im Langzeitverlauf bleibt mehr oder minder einschränkende Negativsymptomatik oft bestehen, auch chronisch aktive Verläufe oder sog. produktive Residuen (d.h. fortbestehende Positivsymptome) kommen vor. Nur ungefähr ein Viertel der Patienten erfährt eine vollständige Remission von jedweder Psychopathologie (Watt, Katz, & Shepherd, 1983).

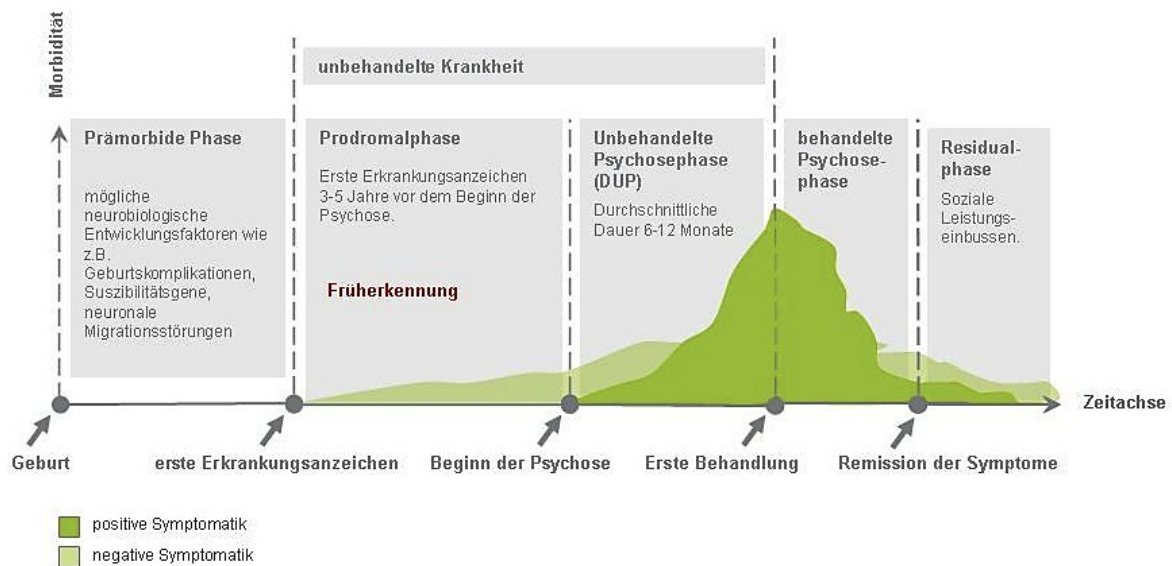


Abbildung 1: Entwicklungsabschnitte der schizophrenen Psychose,

Quelle: <http://zinep.ch/files/Grafik1.jpg>

### 3.1.6 Ätiologie und Pathogenese

Die genauen Ursachen und Pathomechanismen, die zur Entwicklung einer Schizophrenie beitragen, sind trotz stetigen Wissenszuwachses bis zum heutigen Tag noch nicht geklärt. Über die bislang konsistenten Befunde und die daraus resultierenden Theorien soll im Folgenden ein kurzer Überblick gegeben werden, damit der eigene Ansatz eingeordnet werden kann.

#### 3.1.6.1 Makroskopische hirnmorphologische Veränderungen

Auf makroskopischer Ebene konnte bei schizophrenen Patienten eine im Krankheitsverlauf progrediente globale Hirnatrophie mit Zunahme der Ventrikelvolumina im Sinne eines neurodegenerativen Prozesses festgestellt werden (DeLisi, 2008; Steen, Mull, McClure, Hamer, & Lieberman, 2006). Hinsichtlich der grauen Substanz sind vor allem der Hippocampus-Amygdala-Komplex, die Temporallappenregion und der präfrontale Kortex von der Atrophie betroffen (Baiano et al., 2007). Aber auch die weiße Substanz zeigt morphologische Alterationen, insbesondere im Bereich des Corpus callosum (Arnone, McIntosh, Tan, & Ebmeier, 2008; Kubicki et al., 2007).

Durch moderne bildgebende Verfahren, wie die funktionelle MRT und SPECT, konnte bei schizophrenen Patienten eine verminderte Stoffwechselaktivität und Durchblutung des frontalen Kortex (insbesondere anteriorer cingulärer Kortex und dorsolateraler präfrontaler Kortex) im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden nachgewiesen werden (Glahn et al., 2005; Rodriguez-Sanchez et al., 2005; Tamminga et al., 1992). Dieser Befund, der auch als Hypofrontalität bezeichnet wird, war am deutlichsten im Zusammenhang mit der Durchführung neuropsychologischer Tests sichtbar (Yucel et al., 2002). Für die Hypofrontalität werden auch Störungen der Neurotransmitterhomöostase, insbesondere von Dopamin und Glutamat, verantwortlich gemacht.

### 3.1.6.2 Vulnerabilitäts-Stress-Modell und assoziierte biologische Befunde

Nach heutigem Erkenntnisstand kommt es auf Grundlage einer multifaktoriellen Genese zum Ausbruch einer Schizophrenie. Einen Hauptrisikofaktor stellt die genetische Prädisposition dar, deren Evidenz durch Adoptiv- und Zwillingsstudien gut belegt ist. Dabei ergaben sich u.a. Konkordanzraten von 50% bei eineiigen Zwillingen und 15% bei zweieiigen Zwillingen (Bonsch et al., 2012). Die unvollständige Penetranz bei eineiigen Zwillingen und die bis heute ergebnisarme Suche nach wiederkehrenden genetischen Aberrationen lässt vermuten, dass hinzukommend auch epigenetische Einflüsse, z.B. diverse DNA-Methylierungsmuster, für die Ausprägung der Krankheit verantwortlich sind. Genetische Alterationen scheinen noch keine hinreichende Bedingung für die Entwicklung der Erkrankung zu sein. Das Vulnerabilitäts-Stress-Modell von Nuechterlein et al. postuliert, dass erst durch zur genetischen Prädisposition hinzukommende Umweltfaktoren eine klinisch manifeste schizophrene Erkrankung entstehen kann (Nuechterlein & Dawson, 1984). Bereits pränatal erhöhen z.B. maternale Infektionen (z.B. mit *Toxoplasma gondii*, Influenzavirus, Herpes simplex Virus-2 und Rötelviren), Ernährungsdefizite (Folsäure, Eisen, Vit. D), das paternale Alter, fetale/neonatale Hypoxie und andere Entwicklungsfaktoren und Geburtskomplikationen das Erkrankungsrisiko. Postnatale Risikofaktoren sind zum Beispiel psychische Traumata und Infektionen in der Kindheit und Adoleszenz, sozioökonomischer Status und Drogenabusus (v.a. Cannabis) (Brown, 2011). Die genetische Prädisposition im Zusammenspiel mit der erworbenen Vulnerabilität kann in der Mehrzahl der Fälle bis zur Adoleszenz inapparent bleiben. Die in diesem Entwicklungsabschnitt häufig hinzukommenden psychosozialen Stress- und Bewährungssituationen und die Bereitschaft zum Drogenabusus können dann zu einer Dekompensation führen und eine akute Erstmanifestation auslösen. Durch die Erforschung von Risikofaktoren und deren kritische Bewertung lassen sich eventuell biologische Mechanismen für die Entwicklung einer Schizophrenie und ggf. geeignete Präventionsmöglichkeiten erkennen. Die Assoziation von prä- und postnatalen Infektionen mit dem erhöhten Risiko, an einer Schizophrenie zu erkranken, deutet z.B. auf eine Beteiligung des Immunsystems an der Pathogenese hin. So können infektionsbedingt erhöhte Zytokin- bzw. Eikosanoidspiegel entstehen und durch die vermehrte Bildung von reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies (ROS und NOS) kann es zu toxischen Schädigungen von Neuronen und Oligodendrozyten kommen (Davis et al., 2003; Patterson, 2009). Neurochemisch könnte sich dies als

Veränderung im Membranfettsäureprofil, z.B. einer Verminderung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren, äußern. Die vorliegende Untersuchung zielt auf ebendiese biologischen Befunde ab.

### 3.1.6.3 Die Membranlipidhypothese

Wenn eine Erkrankung durch Zusammenwirken von genetischer Prädisposition und Umweltfaktoren auf die Hirnentwicklung entsteht, so müsste sich dafür ein biochemisches Korrelat finden lassen. Eine solche Theorie müsste eine Reihe oft replizierter und als sicher geltender Erkenntnisse integrieren, wie z.B. das dopaminerge/glutamaterge Regulationsdefizit, die o.g. hirnstrukturellen Abweichungen oder die Existenz sog. neurologischer soft signs (Hufner, Frajo-Apor, & Hofer, 2015). Außerdem müssten bislang für sich allein stehende Befunde Eingang in ein solches Konzept finden, wie z.B. die bei schizophrenen Patienten geringere Inzidenz an inflammatorischen Erkrankungen (z.B. rheumatoide Arthritis) (Horrobin, 1977), die teilweise außergewöhnliche Resistenz gegen Schmerzreize oder auch die Remission von psychotischen Symptomen im Zusammenhang mit fieberhaften Zuständen (Horrobin et al., 1978). Hinzukommend erkannte R. G. Hoskins bereits 1933, dass Patienten mit Schizophrenie erhöhte Urinvolumina produzieren. Dieser Befund wurde in einer Studie von Lawson et al. reproduziert (Lawson, Karson, & Bigelow, 1985).

Horrobin stellte 1994 die Hypothese auf, dass ein gestörter Phospholipid- und Fettsäuremetabolismus oben genannte Beobachtungen erklären könne und eng mit der Entwicklung einer Schizophrenie verknüpft sei. So nehmen zum Beispiel Membranen, die Neurone umgeben, indirekt Einfluss auf die neuronale Aktivität und den Neurotransmitterstoffwechsel (Horrobin et al., 1994). Auf Membranniveau werden die Tertiärstruktur von Aminosäuren und die Quartärstruktur von Rezeptor- und Kanalproteinen bzw. assoziierte Second-Messenger-Systeme durch die physikochemische Umgebung (d.h. die Fließeigenschaften der Membran) beeinflusst (Nunez, 1993), welche wiederum vom Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den Phospholipiden abhängt. Alterationen im Haushalt der mehrfach ungesättigten Fettsäuren verändern die Membranfluidität und Permeabilität und beeinflussen somit indirekt neuronale Funktionen, u.a. das Funktionsniveau von Neurotransmittersystemen. Unabhängig davon kann im Falle von Alterationen im Fettsäureprofil auch die hiervon abhängige Eicosanoid- bzw. Prostaglandinsynthese Abnormitäten aufweisen, was wiederum die oben genannten Phänomene, wie Resistenz gegen inflammatorische Erkrankungen, Remission der psychotischen Symptome während febriler Episoden und die Produktion erhöhter Urinvolumina erklären könnte. Aufgrund ihres integrativen Potentials ist die Membranlipidhypothese von Horrobin bis heute bedeutsam, initiierte eine bis heute unvermindert hohe Forschungsaktivität und wurde daher auch zum Ausgangspunkt der vorliegenden Studie.

#### 3.1.6.4 Zur Rolle der Phospholipase A<sub>2</sub> bei schizophrenen Erkrankungen

Im Rahmen der Membranlipidhypothese wurde die bei schizophrenen Patientengruppen wiederholt nachgewiesene erhöhte Aktivität der Phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) als potentiell ursächlich bewertet. Enzyme der PLA<sub>2</sub>-Gruppe fungieren „on demand“ und katalysieren die Entfernung von meist oxidativ geschädigten ungesättigten Fettsäuren (v.a. der Arachidonsäure, AA) von der Sn2- Position der Phospholipide. Sie gelten als „Hausmeister-Enzyme“ des Membranmetabolismus und spielen nicht nur eine wichtige Rolle bei der Degradation und Homöostase von Membranbestandteilen, sondern auch bei der Bereitstellung von Vorstufen für die Bildung von diversen Immun- und Entzündungsmediatoren. Die PLA<sub>2</sub> nimmt damit indirekt Einfluss auf physikochemische Membrancharakteristika (u.a. Membranfluidität, Membranpermeabilität) und die Ionenhomöostase der Neurone in der grauen Substanz bzw. deren Axone in der weißen Substanz, steht also potentiell sowohl mit hirstrukturellen wie auch neurofunktionalen Gegebenheiten in Zusammenhang (Farooqui, Ong, & Horrocks, 2004; S. Smesny et al., 2010). Entsprechend genotypischer Merkmale sind mindestens 19 Isoformen der PLA<sub>2</sub> in der Familie der Säugetiere bekannt (Sun, Xu, Jensen, & Simonyi, 2004). Für die klinisch orientierte Forschung hat sich die Unterscheidung in 3 Hauptgruppen bewährt, je nach Abhängigkeit der Aktivität von der Anwesenheit von Calcium bzw. nach dem Wirkort in der Zelle. Unterschieden werden hierbei eine (i) sekretorische Phospholipase A<sub>2</sub> (sPLA<sub>2</sub>), welche freies Calcium im millimolaren Bereich benötigt, eine (ii) cytosolischen Phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>), welche auf freies Calcium im mikromolaren Bereich angewiesen ist und (iii) eine Calcium-unabhängige Phospholipase A<sub>2</sub> (iPLA<sub>2</sub>), welche ihre maximale Aktivität unter völliger Abwesenheit von Calcium erreicht (Taketo & Masahiro, 2002).

Gattaz et al. führten 1987 erste Untersuchungen der PLA<sub>2</sub> Aktivität im Plasma bei 20 medikamenten-naïven Schizophrenen durch, welche 3 Monate nach Neuroleptikatherapie wiederholt wurden. Sie fanden eine signifikant erhöhte Enzymaktivität bei den neuroleptikafreien Probanden, welche nach antipsychotischer Therapie signifikant gesenkt war (Gattaz, Kollisch, Thuren, Virtanen, & Kinnunen, 1987). Diese Ergebnisse konnten in weiteren Studie repliziert werden, wobei auch erhöhte PLA<sub>2</sub>-Aktivitäten in Thrombozyten und in post mortem Hirngewebe schizophrener Patienten gefunden wurden (Gattaz, Hubner, Nevalainen, Thuren, & Kinnunen, 1990; Ross, Turenne, Moszczynska, Warsh, & Kish, 1999; S. Smesny et al., 2005). Weiterhin fanden sich zwischen der PLA<sub>2</sub>- Aktivität und der Schwere der schizophrenen Psychopathologie signifikant positive Korrelationen (Ross, Hudson, Erlich, Warsh, & Kish, 1997). Ergänzend wurden in Thrombozyten von Schizophrenen erniedrigte Werte von Phosphatidylcholin (Substrat der PLA<sub>2</sub>) und erhöhte Konzentrationen Lysophosphatidylcholin (Relikt nach Abspaltung der FS von der Sn2- Position) gefunden (Pangerl, Steudle, Jaroni, Rufer, & Gattaz, 1991). Dieser Umstand unterstützt die Annahme eines beschleunigten Membranabbaus bei schizophren Erkrankten (Gattaz & Brunner, 1996).

Sowohl die Genorte, die komplexe Regulation und die Verfügbarkeit und Funktionalität von downstream Produkten der PLA<sub>2</sub>-Aktivität (z.B. AA-Derivate, Eicosanoide) wurde im Rahmen der Schizophrenieforschung intensiv untersucht. Der ursprünglich angenommene kausale Charakter der

PLA<sub>2</sub>-Funktionsstörung für die Membranlipidpathologie, z.B. als Folge einer genetischen Anomalie, hat in den letzten Jahren wenig Bestätigung erfahren. Stattdessen bestehen hohe Erwartungen in die Aussagekraft der PLA<sub>2</sub>-Aktivität als potentieller Risiko- und Verlaufsmarker für schizophrene Erkrankungen, sowie als Hilfe zur Indikationsstellung für diverse sekundär präventive Strategien (z.B. die Nahrungsergänzung mit Omega-3 Fettsäuren) oder pharmakotherapeutische Interventionen (z.B. mit Clozapin). Als Schlüsselenzym des Membran- und Fettsäuremetabolismus ist die PLA<sub>2</sub>-Aktivität eng mit der Membranlipidhypothese und auch der Dopaminhypothese (incl. Hypofrontalitätskonzept) verbunden.

## **3.2 Lipidmetabolismus**

Zum besseren Verständnis der in dieser Arbeit bestimmten Parameter des Lipidstoffwechsels soll im Folgenden ein Überblick über den Aufbau biologischer Membranen, die Verdauung und Verteilung von Fetten und die Bedeutung von Fettsäuren gegeben werden.

### **3.2.1 Der Aufbau biologischer Membranen**

Jede lebende Zelle ist umgeben von einer 7-10nm dicken Membran, die für einen geregelten Stoffaustausch und die Kommunikation mit der Außenwelt einen unverzichtbaren Rahmen bietet. Des Weiteren wird über diese Membran eine Potenzialdifferenz zwischen Intra- und Extrazellulärraum aufrechterhalten, welche die Grundlage für die Reizweiterleitung im Nervensystem ist. Auch Zellorganellen wie Mitochondrien oder das endoplasmatische Retikulum sind von Membranen umgeben, die damit auch als Basis für die Kompartimentierung des Zellinneren dienen. Diese Membranen sind semipermeabel, was bedeutet, dass lipophile und sehr kleine hydrophile Verbindungen (Ammoniak, Ethanol, Harnstoff) die Membran per diffusionem durchdringen können, wohingegen größere polare Moleküle sie nur durch spezifische Transportproteine passieren können. Biologische Membranen bestehen überwiegend aus Phospholipiden (zu einem kleineren Teil aus Glykolipiden, Sphingophospholipiden und Cholesterin), deren Struktur in Abb. 2 zu sehen ist.

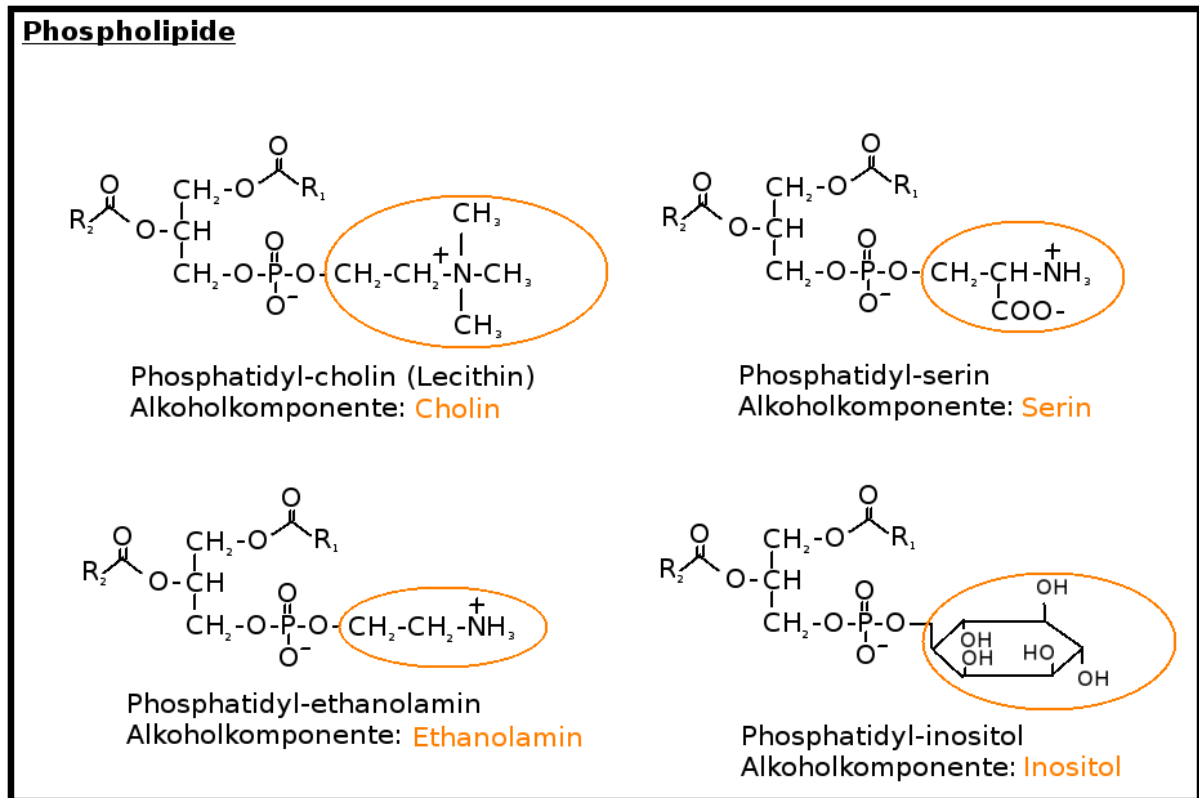


Abbildung 2: chemische Struktur der Phospholipide,

Quelle: <http://chemieplanet.org/images/3/3e/Phospholipide.png>

Die Phospholipide besitzen ein Glycerin-Grundgerüst, welches über einen Phosphatrest mit einer polaren Kopfgruppe verbunden ist. Die verbliebenen Bindungsstellen des Glycerins werden durch zwei veresterte Fettsäuren eingenommen. Aufgrund der polaren und unpolaren Anteile sind Phospholipide amphiphile Verbindungen, die in wässriger Lösung spontan eine Doppelschicht bilden. Dabei zeigen die polaren Kopfgruppen zum Extra- bzw. Intrazellularraum, die hydrophoben Fettsäuren zum Inneren der Membran. Der Name der Phospholipide leitet sich von der Kopfgruppe ab, wobei Phosphatidylcholin (PC), Phosphatidylserin (PS), Phosphatidylethanolamin (PE) und Phosphatidylinositol (PI, welches über die Bildung von IP<sub>3</sub> und DAG eine wichtige Rolle bei der Signaltransduktion einnimmt) die wichtigsten Vertreter sind. Ein weiterer Membranbestandteil, der vor allem in den Myelinscheiden der Nervenzellen vorkommt, ist das Sphingomyelin (SM). Es hat im Gegensatz zu den anderen Phospholipiden ein Grundgerüst aus Ceramid (Sphingosin + Fettsäure) und ist mit einer weiteren langkettigen Fettsäuren verbunden (siehe Abb.3). Als polare Kopfgruppe, die über einen Phosphatrest mit dem Ceramid verbunden ist, dient der Aminoalkohol Cholin.

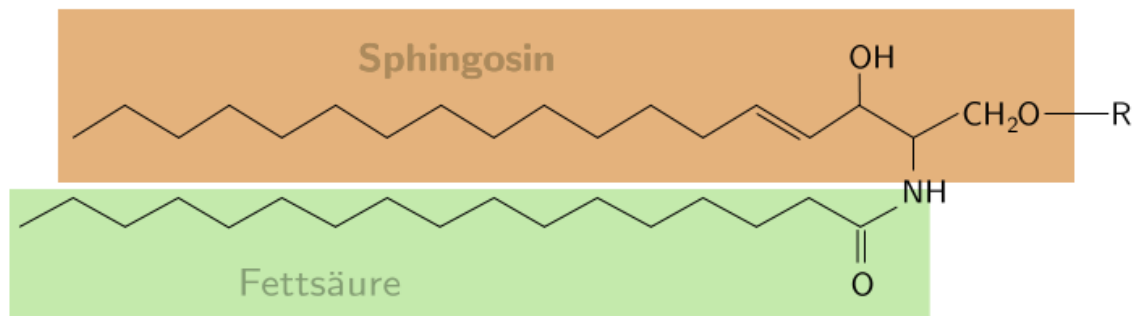


Abbildung 3: chemische Struktur der Sphingolipide,

Quelle: [https://de.wikipedia.org/wiki/Sphingolipide#/media/File:Sphingolipid\\_de.svg](https://de.wikipedia.org/wiki/Sphingolipide#/media/File:Sphingolipid_de.svg)

Durch aktive Transportmechanismen, sogenannte Flippasen, wird eine asymmetrische Verteilung der Phospholipide zwischen innerer und äußerer Seite der Biomembran bewerkstelligt und aufrechterhalten. So befinden sich PC und SM vorwiegend auf der extrazellulären Seite der Membran, PI, PE und PS sind dagegen überwiegend auf der intrazellulären Seite zu finden (Peterson & Cummings, 2006).

Über die Art der veresterten Fettsäuren (Anzahl an C-Atomen und Doppelbindungen) an der Sn1 und Sn2 Position der Phospholipide wird der Grad der Fluidität der Membran bestimmt. Doppelbindungen führen zu Knicken in der Fettsäure, sodass die geordnete Struktur gestört wird und die Membran „verflüssigt“ wird.

In die Membran sind verschiedenste Proteine eingelassen, die zum Beispiel wichtige Transportfunktionen übernehmen und an der Weiterleitung von Informationen in das Zellinnere beteiligt sind. Proteine und Lipide an der Außenseite der Membran sind oftmals kovalent mit Kohlenhydratketten verbunden, welche die sogenannten Glykokalix bilden. Diese spielen eine wichtige Rolle bei der Erkennung von Fremd und Selbst durch das Immunsystem und bei der Zelladhäsion.

### 3.2.2 Aufnahme von Lipiden aus der Nahrung

Um die Ernährungsabhängigkeit der in dieser Studie untersuchten Parameter verständlich zu machen, soll der Stoffwechselweg der mit der Nahrung aufgenommenen Fette und ihr Weg zu den Zielgeweben (z.B. den Neuronen des ZNS) nachfolgend kurz erläutert werden.

In westlichen Ländern beträgt die tägliche Aufnahme von Fetten aus der Nahrung 60-100 g/d, wobei Triacylglyceride (TAG) mit rund 90% den Hauptteil bilden (die restlichen 10% bestehen hauptsächlich aus Cholesterolestern, plant sterols und Phospholipiden) (Friedman & Nylund, 1980). Dabei soll laut Ernährungsempfehlungen die Fettaufnahme 25% des täglichen Energiebedarfs decken (Dieser Wert wird in den Industrieländern mit im Schnitt 40% deutlich überschritten, was zu erhöhten Inzidenzen von Adipositas, Arteriosklerose und anderen Erkrankungen beiträgt). Voraussetzung für



die Spaltung der Fette durch sogenannte Lipasen, welche im Speichel, im Magensaft und im Pankreassekret vorkommen, ist die Emulgierung. Darunter versteht man die Überführung der Fette in kleine Tröpfchen, die von Wasser umgeben sind. Dieser Prozess läuft zum Teil bereits im Magen ab, aber erst durch die Gallensäuren, die alle Lipide aus den Nahrungsbestandteilen herauslösen und in winzige Mizellen spalten, wird eine ausreichend große Angriffsfläche für die Lipasen geschaffen. Die Pankreaslipase spaltet bevorzugt Esterbindungen an der Sn1- und Sn3- Position der TAG, sodass 2-Monoacylglycerine entstehen. Die verbliebene Fettsäure (FS) wird entweder durch eine sekretorische Phospholipase A<sub>2</sub> (s.o.) oder durch die Cholesterin-Esterase, welche sich ebenfalls im Sekret des Pankreas befindet, abgespalten. Kurzkettige, freie FS können per „Flip-Flop-Mechanismus“ direkt in die luminale Membran der Enterozyten gelangen. Für die Aufnahme der langkettigen FS und des Glycerins sind spezifische Transportproteine, wie z.B. das fatty acid transport protein 1 (FATP1) für die FS und das Aquaporin (AQP10) für das Glycerin notwendig. In den Enterozyten werden freie FS mit Coenzym A vererstert, um eine Rediffusion in das Duodenum zu verhindern. Anschließend werden am endoplasmatischen Reticulum erneut TAG gebildet, die zusammen mit Phospholipiden, Cholesterin und fettlöslichen Vitaminen als sogenannte Chylomikronen an der basolateralen Membran in die Lymphe abgegeben werden.

### 3.2.3 Der Stoffwechsel der Lipoproteine

Für den Transport der hochenergetischen Fette zu den verschiedensten Geweben über den Blutweg sind die Lipoproteine zuständig. Sie bestehen aus den hydrophoben Fetten im Inneren, die von einer Schicht aus Phospholipiden und Proteinen (Apolipoproteinen) umgeben sind, welche die Löslichkeit im Blut vermitteln und weitere spezifische Aufgaben erfüllen. Die Einteilung der Lipoproteine richtet sich nach ihrem Protein-Lipid-Verhältnis und den sich daraus ergebenden Dichteunterschieden. Chylomikronen, welche fast ausschließlich aus TAG bestehen, verteilen die mit der Nahrung aufgenommenen Lipide an die Organe und werden letztendlich in der Leber abgebaut. Endogen synthetisierte Lipide, die v.a. in der Leber gebildet werden, werden über die sogenannten VLDL (very low density lipoproteins) an die Peripherie verteilt. Durch Abgabe von TAG akkumulieren im Kern der VLDL v.a. Cholesterinester und ihre Dichte steigt, sodass sie als LDL (low density lipoproteins) bezeichnet werden. LDL können über den LDL-Rezeptor von jeder Zelle aufgenommen werden, die über die Regulation der Expression des Rezeptors ihren Cholesterinbedarf anpassen kann. Für die Rückführung von überschüssigem Cholesterin, dass in der Leber über die Bildung von Gallenflüssigkeit ausgeschieden werden kann, sind die HDL (high density lipoproteins) zuständig.

Die in dieser Arbeit gemessene Plasmalipidfraktion der TAG spiegelt demnach die mit der Nahrung aufgenommenen bzw. die endogen hepatisch synthetisierten FS wider, die mittels Chylomikronen und VLDL an die Organe verteilt werden. Cholesterinester stellen die Speicher- und Transportform des Cholesterins dar und sind in hohen Konzentrationen in den LDL und HDL vorhanden. Das Fettsäureprofil dieser Lipidfraktionen ist daher von der Fettsäurezusammensetzung der kürzlich

aufgenommen Nahrung abhängig. Im Gegensatz spiegeln die Fettsäureprofile der Phospholipide des Plasmas (die zusammen mit den Apolipoproteinen die Hülle der Lipoproteine bilden) und der Sphingomyelin- und Phosphatidylethanolamin-Fraktion der Erythrozytenmembran eher die Fettaufnahme der vergangenen Wochen bis Monate wider (Saadatian-Elahi et al., 2009). Zusätzlich ist ihre Zusammensetzung auch beeinflusst durch die endogene Fettsäuresynthese und die Aktivität der involvierten Enzyme. Diese grobe zeitliche Einteilung stellt allerdings nur eine Vereinfachung des sehr komplexen Lipidmetabolismus dar (Riboli, Ronnholm, & Saracci, 1987).

### 3.2.4 Biochemie der Fettsäuren

Die in dieser Arbeit im Vordergrund stehenden Fettsäuren erfüllen im menschlichen Körper eine Vielzahl verschiedenster Aufgaben. Sie dienen als Energiespeicher in den Adipozyten, stellen einen Grundbaustein der Zellmembranen dar, sind Ausgangsstoffe für die Synthese verschiedenster Mediatoren, wie Prostaglandinen und Thromboxanen, vermitteln die intestinale Aufnahme der fettlöslichen Vitamine A, D, K und E, dienen als mechanischer Schutz der inneren Organe und als Wärmepolster. Fettsäuren sind hydrophobe Moleküle, die aus einer Kohlenwasserstoffkette variabler Länge bestehen, an deren einem Ende eine Carboxylgruppe vorhanden ist. Ihre Struktur kann auf 4 verschiedene Arten variieren: 1. Vorhandensein und Anzahl von Doppelbindungen, 2. Anzahl der C-Atome bzw. Länge der Kette, 3. Der Lokalisation der Doppelbindung, 4. Der Orientierung der Doppelbindung (Kalish, Fallon, & Puder, 2012).

Somit kann eine grobe Einteilung der Fettsäuren in gesättigt (keine Doppelbindung), einfach ungesättigt (eine Doppelbindung) und mehrfach ungesättigt (mehr als eine Doppelbindung) vorgenommen werden. Doppelbindungen verursachen „Knicke“ in der Kohlenwasserstoffkette, wodurch eine enge Packung der Fettsäuren verhindert wird, der Schmelzpunkt sinkt und die Reaktivität steigt (Ratnayake & Galli, 2009). Doppelbindungen können prinzipiell in einer cis oder trans Konfiguration vorliegen, welche sich durch die relative Stellung der Substituenten (bei den Fettsäuren Kohlen- bzw. Wasserstoffatome) zu der Doppelbindung (als Referenzebene) unterscheiden. Liegen beide Substituenten auf der gleichen Seite, handelt es sich um eine cis-Konfiguration. Liegen sie auf entgegengesetzten Seiten, spricht man von einer trans-Konfiguration. Eine weitere Möglichkeit der Einteilung der ungesättigten Fettsäuren kann je nach Abstand der ersten Doppelbindung vom Methylende aus gesehen vorgenommen werden. In der Nomenklatur wird dies mit einem „n“ oder „ω“ gekennzeichnet. Die Nomenklatur der Fettsäuren nach IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) versucht, all diese strukturellen Unterschiede der Fettsäuren einheitlich zu berücksichtigen. In der Literatur werden allerdings zumeist verkürzte Schreibweisen oder Trivialnamen für die Fettsäuren benutzt.

Am Beispiel der Linolsäure (LA) soll dies verdeutlicht werden:

Summenformel:  $C_{18}H_{32}O_2$

Nomenklatur nach IUPAC: cis, cis- 9,12-Octadecadienoic acid (bzw. Octadecadiensäure)

verkürzte Schreibweise: 18:2n6

Die verkürzte Schreibweise verdeutlicht, dass die Linolsäure aus 18 C-Atomen besteht und 2 Doppelbindungen besitzt, wobei die erste mit dem sechsten C-Atom vom Methylende aus gesehen verknüpft ist. Nicht berücksichtigt wird, ob es sich um eine Doppelbindung der cis- oder trans-Konfiguration handelt. In dieser Arbeit werden bevorzugt Trivialnamen bzw. die verkürzte Schreibweise benutzt. Sind Doppelbindungen in der trans- Konfiguration vorhanden, so wird dies gesondert gekennzeichnet.

Da ein Hauptaugenmerk dieser Arbeit auf den mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) liegt, soll im Anschluss deren Stoffwechsel verdeutlicht werden. PUFAS werden, je nach Abstand der ersten Doppelbindung vom Methylende aus gezählt, in Omega-3, Omega-6 und Omega-9 Fettsäuren unterteilt (s.a. Abbildung 4).

Da den Menschen die Enzyme fehlen, Doppelbindungen in der Omega-3 und Omega-6 Position einzufügen, gelten die Ausgangsfettsäuren dieser FS-Familien und einzelne Vertreter mit hohem Bedarf (EPA,DHA,AA) als essentielle Fettsäuren und müssen mit der Nahrung zugeführt werden (Grammatikos, Subbaiah, Victor, & Miller, 1994). Die Vorläuferfettsäure für die Omega-6-Familie ist die Linolsäure (LA, s.o.), die in hohen Konzentrationen in pflanzlichen Ölen wie z.B. Distelöl, Sonnenblumenöl, Rapsöl und vielen anderen Ölen vorkommt. Die alpha-Linolensäure (ALA) stellt hingegen den Vorläufer weiterer Omega-3-FS dar. Sie kann z.B. durch den Verzehr von Nüssen, Leinöl, Walnussöl oder Rapsöl aufgenommen werden. Omega-9-FS können vom menschlichen Organismus selbst synthetisiert werden, wobei die Ölsäure die Ausgangsfettsäure darstellt. Zusätzlich finden sich hohe Gehalte an Ölsäure z.B. in Olivenöl, Erdnussöl, Rapsöl und auch in tierischen Fetten. Aus diesen Vorläuferfettsäuren können über mehrere enzymatische Schritte mittels Desaturasen und Elongasen alle weiteren, vom menschlichen Organismus dringlich benötigten, Fettsäuren synthetisiert werden. Eine Übersicht über die einzelnen Syntheseschritte soll in Abb. 4 gegeben werden. Desaturasen können Elektronen von einer gesättigten Bindung der Fettsäure aufnehmen und auf ein anderes Molekül übertragen, sodass eine Doppelbindung in die Fettsäure eingefügt wird (die Zahl nach dem  $\Delta$  im Namen der Desaturase kennzeichnet das C-Atom vom Carboxylende aus gezählt, an dem die Doppelbindung eingebaut wird). Elongasen erweitern die Acylkette um einen weiteren  $C_2$ -Baustein.

So wird die essentielle ALA durch die  $\Delta 6$ -Desaturase, anschließende Elongation und  $\Delta 5$ -Desaturase zur Eicosapentaensäure (EPA) umgewandelt, welche über weitere Zwischenschritte zur Docosahexaensäure (DHA) konvertiert wird. Eine Reversibilität einzelner Schritte ermöglicht eine

Retrokonvertierung der DHA zurück zur EPA. Auch die Fettsäuren der Omega-6-Familie werden über diese Enzyme verstoffwechselt, wodurch eine gewisse Konkurrenz um die Bindung am katalytischen Zentrum entsteht. Aus der LA wird über die Intermediate  $\gamma$ -Linolensäure (GLA) und Dihomo- $\gamma$ -Linolensäure (DGLA) die Arachidonsäure (AA) gebildet, welche eine Schlüsselrolle bei der Bildung von proinflammatorischen Eicosanoiden spielt und daher für die vorliegende Arbeit von besonderer Bedeutung ist.

Auch die endogen synthetisierbare Ölsäure kann über die gleichen Enzyme entweder zur Mead'schen Säure konvertiert oder durch 3-fache Elongation zur Nervonsäure (C24:1n9) erweitert werden, wobei letztere vor allem in Sphingolipiden, d.h. Strukturbausteinen weißer Hirnsubstanz, gebunden ist. Die Genexpression für die Elongasen und Desaturasen unterliegt einer Kontrolle durch z.B. Insulin, Glucocorticoide,  $T_3$ , Leptin und die Transkriptionsfaktoren SREBP-1 und PPAR $\alpha$  (Wang et al., 2006).

Im Allgemeinen weisen die genannten Enzyme (Desaturasen, Elongasen) eine höhere Affinität zu den Omega-3-FS auf, wodurch diese bevorzugt umgewandelt werden. Erst im Falle eines Mangels werden verstärkt Fettsäuren der Omega-6-Familie verstoffwechselt. Die alleinige Zufuhr von ALA reicht nicht aus, um den Bedarf an längerkettigen Omega-3-PUFA, wie EPA und DHA, zu decken. Dies ist auch dadurch begründet, dass beim Menschen LA mit der ALA um die Bindungsstellen der  $\Delta 6$ -Desaturase konkurriert und diese dadurch gebremst wird. Daher müssen auch EPA und DHA direkt mit der Nahrung zugeführt werden. Aufgrund der Nahrungsabhängigkeit und ihrer vielfältigen physiologischen Funktionen, u.a. präventiver Effekte für Herz-Kreislauf-Erkrankungen (Serum-TAG ↓, LDL-Cholesterin ↓, HDL-Cholesterin ↑, RR ↓, Thrombozytenaggregation ↓, Herzrhythmusstörungen ↓) gelten ALA, EPA und DHA im Rahmen der Omega-3 Familie als essentiell. Ein regelmäßiger Verzehr von fettem Seefisch (z.B. Lachs, Hering, Thunfisch) ist für eine ausreichende Versorgung mit EPA und DHA notwendig, da gerade dessen Fett zu einem hohen Anteil aus langkettigen Omega-3-FS besteht.

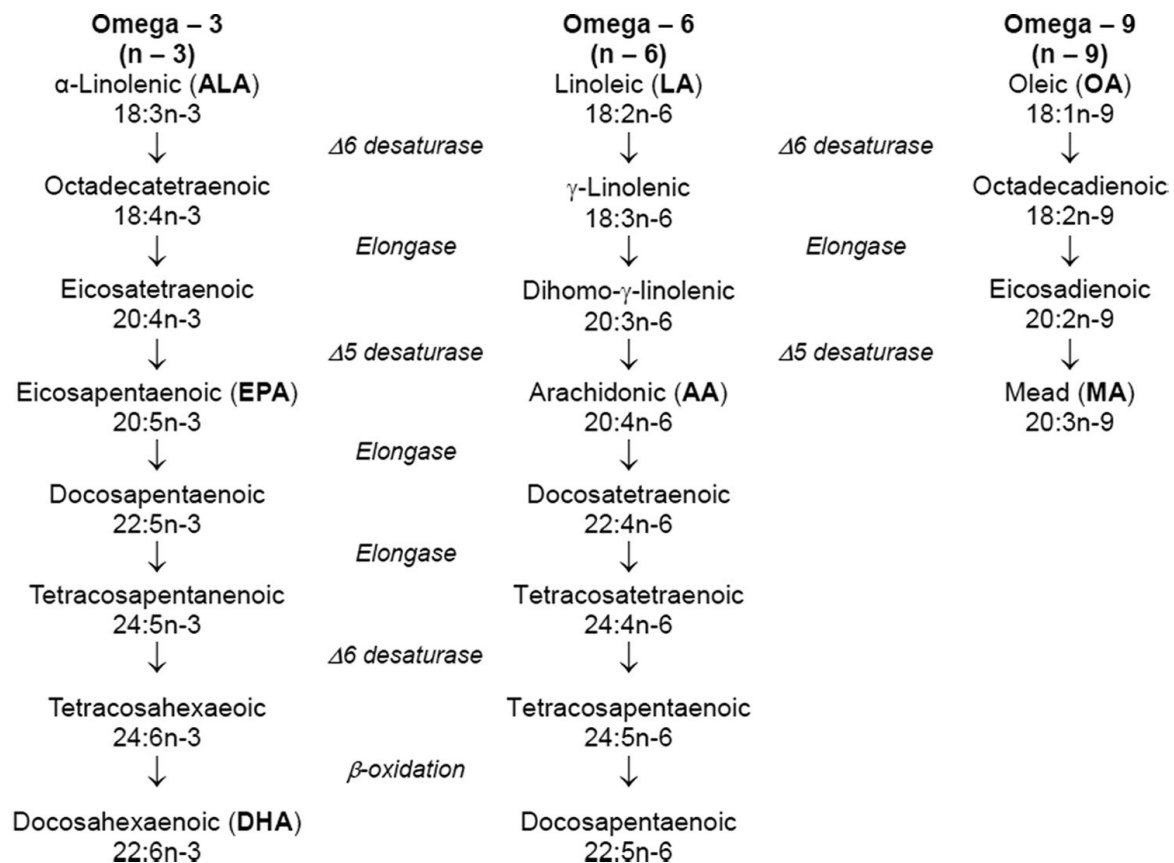


Abbildung 4: Die Hauptfamilien der mehrfach ungesättigten Fettsäuren und deren Metabolisierung, nach Kalish et al. 2012

### 3.2.5 Bedeutung der PUFA im Stoffwechsel des Gehirns

Lipide nehmen eine herausragende Stellung bei der Entwicklung, dem Aufbau und der Funktion des Gehirns ein. Das Gehirntrockengewicht besteht zu ~60% aus Lipiden, wobei regionale Unterschiede vorhanden sind: Myelin besteht aus 78-81%, weiße Substanz aus 49-66% und graue Substanz aus 36-40% Lipiden (O'Brien & Sampson, 1965). In Bezug auf Fettsäuren nehmen die DHA mit 15% und die AA mit 10% als PUFA den Hauptanteil der beteiligten Fettsäuren ein (McNamara et al., 2007). Die DHA, welche in besonders hohen Konzentrationen an der synaptischen Membran vorkommt, ist Ausgangsstoff für die Synthese von Docosanoiden, wie z.B. dem Neuroprotectin D1, welches eine antiapoptotische Funktion ausübt (Bazan, 2005). Die AA ist, zusammen mit EPA und DGLA, der Ausgangsstoff für die Bildung der Eicosanoide. Dies sind Gewebemediatoren, die lokal begrenzt einen wichtigen Einfluss auf das Immunsystem, die Blutgerinnung und die Durchblutung haben. Zusätzlich agiert die Arachidonsäure selbst als second messenger und beeinflusst die Aktivität von Kaliumkanälen, aktiviert die Proteinkinase C, moduliert die Langzeit-Potenzierung und übt einen direkten Einfluss auf das dopaminerge, serotoninerge und glutamaterge System aus (Skosnik & Yao, 2003). Die mehrfach ungesättigten Fettsäuren beeinflussen durch ihre Vielzahl an Doppelbindungen und die damit verbundenen Verzweigungen in der Molekülstruktur entscheidend die Membranfluidität und somit auch die eingelassenen Membranproteine (s.o.). Auch für die Myelinisierung der Axone

spielt das Fettsäureprofil der Membranen eine wichtige Rolle. Schlussfolgernd können Alterationen im Lipidstoffwechsel verschiedenste Veränderungen im Gehirn-Stoffwechsel hervorrufen, die mit neurologischen und psychiatrischen Störungen einhergehen können.

### 3.2.6 Bedeutung der Transfettsäuren

TFAs sind durch das Vorliegen von mindestens einer Doppelbindung in der trans-Konfiguration (siehe weiter oben) gekennzeichnet, welche vom menschlichen Organismus nicht synthetisiert werden kann. Sie werden zum einen im Magen von Wiederkäuern durch die bakterielle Flora produziert (ruminante TFA), oder entstehen bei der industriellen Härtung von pflanzlichen Fetten (industrielle TFA). Die ruminanten TFA, deren Hauptvertreter die Vaccensäure (C18:1t11) ist, gelangen durch den Verzehr von Milchprodukten und Fleisch von Wiederkäuern in den menschlichen Organismus (Brouwer, Wanders, & Katan, 2010). Die industrielle Härtung von pflanzlichen Fetten dient deren Stabilisierung gegenüber Oxidationen, was zu einer längeren Haltbarkeit führt sowie der Verbesserung des Geschmacks. Hierbei entsteht als Hauptvertreter die Elaidinsäure (C18:1t9) (Menaa & Treton, 2013). Transfettsäuren werden hauptsächlich durch den Verzehr von Margarine, Pommes Frites, Chips, frittierten Speisen und vielen anderen Lebensmitteln aufgenommen. Sie haben einen negativen Einfluss auf die Gesundheit des Menschen. So steigern sie durch Senkung der HDL-Konzentration und Erhöhung der LDL-Konzentration das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen, können zu Insulinresistenz führen, erhöhen den Anteil an viszeralem Fett und stehen im Verdacht, das Risiko für Brustkrebs und das kolorektaler Karzinome zu erhöhen (Menaa et al., 2013).

## 4 Methodik

### 4.1 Studienaufbau

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Fall-Kontrollstudie, in der biologisches Material von einer schizophrenen Patienten-Gruppe mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen wurde. Im Plasma wurden die Fettsäureprofile der Triacylglycerid (TAG)-, Cholesterolester(CE)- und Phospholipid(PL)-Fraktion untersucht. Ziel der Untersuchung der Plasmalipidklassen war es, mögliche Unterschiede zwischen den Patienten und Kontrollen zu detektieren und gegebenenfalls auf deren Nahrungsabhängigkeit zu schließen. Weiterhin wurden aus der Erythrozytenmembran die Phosphatidylethanolamin(PE)- und die Sphingomyelinfraktion(SM) isoliert und wiederum hinsichtlich ihres Fettsäureprofils zwischen Patienten und Kontrollen verglichen. Die PE-Fraktion stellt die am höchsten konzentrierte Phospholipidklasse auf der inneren Seite von Biomembranen, auch von Neuronen, dar, gilt als größte Angriffsmöglichkeit der intrazellulären PLA<sub>2</sub> und besteht prozentual zu einem hohen Anteil aus DHA und AA, wodurch sie das größte Potenzial hat, Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen aufzuzeigen. Die Sphingomyelinfraktion wurde aufgrund ihrer hohen Bedeutung beim Aufbau der Myelinscheiden in der weißen Substanz des ZNS in die Analyse einbezogen. Sowohl die PE, wie auch die SM-Fraktion sind von den unmittelbaren Ernährungsgewohnheiten weitgehend unabhängig.

Die Patienten erfüllten zum Zeitpunkt der Blutentnahme die Kriterien für eine schizophrene Episode nach ICD-10, die charakteristische Symptomatik bestand also seit mindestens 4 Wochen. Die Rekrutierung der Patienten fand über eine Psychose-Früherkennungsambulanz statt, welche die Patienten bereits in der Prodromalphase (bzw. ultra-high risk Phase) in die klinische Beobachtung einschließt. Alle Patienten waren zum Untersuchungszeitpunkt noch ohne jegliche antipsychotische Medikation, auch als Neuroleptika-naiv bezeichnet.

Bei der hier untersuchten Population wurde auch die intrazelluläre, weitgehend Kalzium unabhängige PLA<sub>2</sub> untersucht. Ebenso wurde die Psychopathologie wie vorbeschrieben mittels PANSS-Scores erfasst. Dieser Teil der Untersuchung bezieht sich ausschließlich auf die vom Autor durchgeführten Fettsäureanalysen, die PLA<sub>2</sub> und Psychopathologie wird also hier nicht betrachtet.

#### 4.1.1 Studiengruppen und Untersuchungsprogramm

Insgesamt nahmen 65 Probanden an der Studie teil (siehe Tab. 3). Signifikante Unterschiede in der Alters- und Geschlechtsverteilung ergaben sich aufgrund der Gruppenparallelisierung hierfür erwartungsgemäß nicht. Die nachfolgende Abbildung 5 fasst das Untersuchungsprogramm zusammen.

Tabelle 2: Zusammensetzung der Studiengruppen

	Kontrollgruppe (n=33)	Patientengruppe (n=32)
Geschlecht [n]		
m/w	18/15	19/13
Alter $\pm$ SD	24,9 $\pm$ 4,6	25,8 $\pm$ 4,8

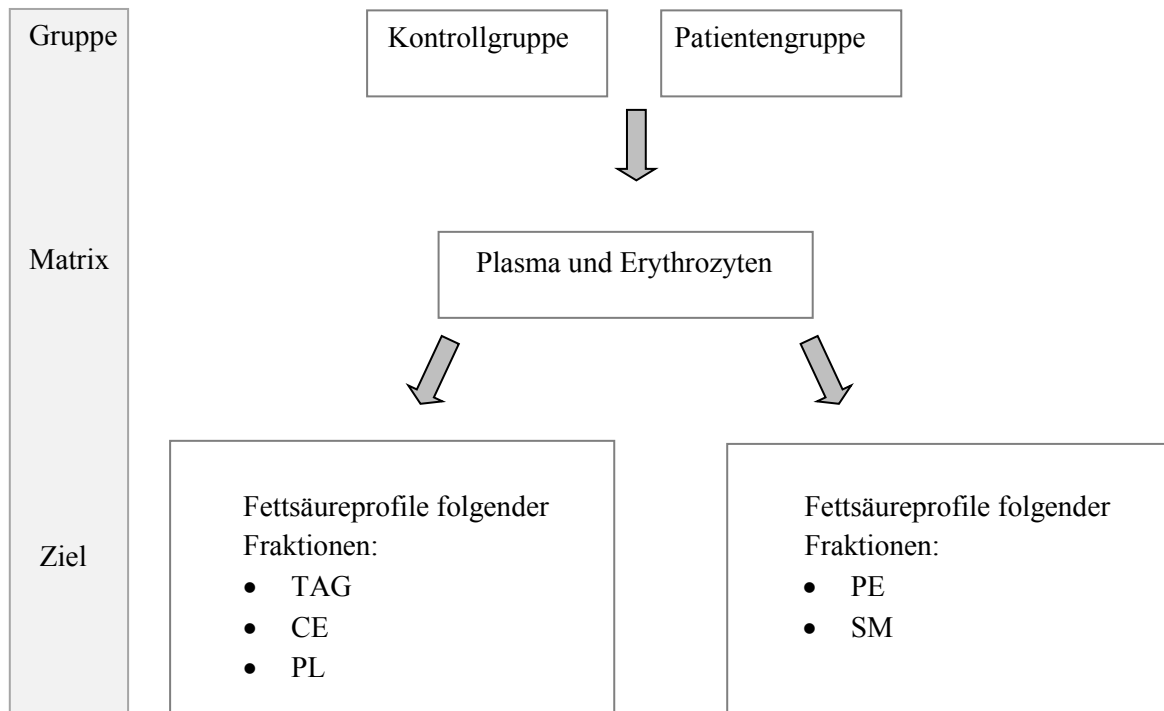


Abbildung 5: Studienaufbau

## 4.2 Gewinnung und Präanalytik der Proben

### 4.2.1 Benötigte Materialien

- Technische Geräte
  - **Kühlzentrifuge**, z.B. Eppendorf Zentrifuge 5720 R
  - **-80°C Ultratiefkühlschrank** (Jena Lab: Sanyo UDF-U45V, eingestellt auf -72°C)
- Venenpunktion
  - **Sarstedt S-Monovette® System:**
    - **Multifly safety Kanüle** mit Multiadapter grün (0,8mm) oder blau (0,6mm)
    - **9 ml Serum Monovette** mit Gerinnungsaktivator
    - **9 ml K-EDTA Monovette**
    - **2,7 ml K-EDTA Monovette**
  - **Stauschlauch, Desinfektionsspray, Mulltupfer, Pflaster, Handschuhe**



- Lagerung
  - o **Cryo.s™** Einfrierröhrchen 1 ml
  - o **Cryoboxen** aus Karton, z.B. Rotilabo®

## 4.2.2 Prozedere

Die Entnahme der Blutproben erfolgte in einem Zeitfenster von 7.30-8.30 Uhr im Labor der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Universitätsklinikums Jena. Die Probanden waren zum Zeitpunkt der Blutentnahme nüchtern. Alle Arbeiten wurden unter dem Tragen von Latex-Einmalhandschuhen durchgeführt. Nach Desinfektion der Ellenbeuge und Anlage des Stauschlauches wurde in den meisten Fällen die Vena mediana cubiti punktiert (in Ausnahmefällen wurde eine Vene des Handrückens oder des radialen Unterarms genutzt). Abgenommen wurden für diese Studie 2 EDTA-Monovetten mit jeweils 9ml Fassungsvermögen (für Plasma- und Erythrozytenanalytik). Um durch mögliche, ebenfalls bei Schizophrenie beschriebenen Veränderungen im antioxidativen System bedingte Lipidperoxidationen zu minimieren, wurden die gewonnenen Proben direkt im Anschluss im Labor weiterverarbeitet. Hierfür wurden zunächst die Zentrifugen mittels „FAST TEMP“ Funktion auf +4°C vorgekühlt. Die Serum-Monovetten wurden für 30 Minuten bei Raumtemperatur aufrecht gelagert, um eine vollständige Gerinnung zu erreichen. In der Zwischenzeit wurden die zur Plasma- und Erythrozytenuntersuchung vorgesehenen Blutproben weiterverarbeitet (siehe unten). Nach Gerinnung der Serumproben wurden diese für 15 Minuten bei 4000rpm (dies entspricht 2500g bei der Eppendorf 5702R Zentrifuge mit einem Rotationsradius von 13,5cm) zentrifugiert und anschließend die obere wässrige Phase mit Glaspipetten abgenommen und in die zugehörig beschrifteten 1ml Cryo-Tubes gegeben. Die EDTA-Plasma-Monovetten wurden für 18 Minuten bei 3000rpm (dies entspricht 1400g bei der Eppendorf 5702R Zentrifuge mit einem Rotationsradius von 13,5cm) zentrifugiert und wiederum die obere wässrige Phase mit Glaspipetten abgenommen und in die beschrifteten 1ml Cryo-Tubes gegeben. Für die Erythrozytenanalyse wurden außer dem Plasma noch die Leukozyten abgenommen und die verbleibenden Erythrozyten mittels Einmalpipette in die entsprechenden 1ml Cryo-Tubes gegeben. Während der Zentrifugierung der Plasmaproben wurden die Vollblutproben mittels Einmalpipette in die entsprechenden 1ml Cryo-Tubes transferiert. Die Aufbewahrung der Proben erfolgte bei -72°C.

## 4.3 Lipidextraktion aus Plasma und Erythrozyten nach der „Mini-Folch“ Methode

### 4.3.1 Prinzip

Bei der Lipidextraktion nach Folch et al. wird die zu analysierende Probe mit Methanol, Chloroform und 2%iger NaCl-Lösung inkubiert, geschüttelt und zentrifugiert, um eine Phasentrennung zu erhalten.

Dabei lösen sich die Lipide der Probe in der chloroformhaltigen Phase am Boden des Reagenzgefäßes, während sich polare, wasserlösliche Bestandteile in der wässrigen bzw. methanolischen Phase darüber lösen. Diese 2 Phasen können darauf voneinander getrennt und somit die Lipide aus der Probe extrahiert werden (Folch, Lees, & Sloane Stanley, 1957).

### 4.3.2 Benötigte Materialien

- Geräte und Hilfsmittel:
  - **Ultraschallbad** (Sonorex RK 106) – Bandelin electronic GmbH & Co. Berlin
  - **Vortex** (MS1 Minishaker) – Ika Works, Inc., Wilmington, USA
  - **Zentrifuge** (Rotina 46) – Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen
  - **N<sub>2</sub>-Evaporator**, beheizbar – Gebr. Liebisch GmbH & Co. KG, Bielefeld
  - **Waage** (LP620S) - Sartorius AG, Göttingen
  - **Pipetten** (Transferpette®) – BRAND GmbH & Co. KG, Wertheim
  - **Pipettenspitzen** - BRAND GmbH & Co. KG, Wertheim
  - **Pasteurpipetten** - BRAND GmbH & Co. KG, Wertheim
  - **Pyrexröhrchen** (verschließbar)
  - **Zentrifugenröhrchen** (konisch)
  - **Bechergläser**
  - **Deckel mit Septen**
  - **Glasstäbe**
  - **Glaswolle**
  - **Säulchen** (Pasteurpipette mit Glaswolle gestopft und Natriumsulfat)
  - **Einmalhandschuhe** - Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
- Chemikalien und Reagenzien
  - **n- Hexan** HiPerSolv CHROMANORM® - VWR, Darmstadt
  - **Methanol** HiPerSolv CHROMANORM® - VWR, Darmstadt
  - **Chloroform** HiPerSolv CHROMANORM® - VWR, Darmstadt
  - **2%ige NaCl- Lösung** - KMF Laborchemie Handels GmbH, Lohmar
  - **Natriumsulfat** ≥98,5%, Ph. Eur. - Merck KGaA, Darmstadt
  - **N<sub>2</sub>** - Linde AG, Pullach

### 4.3.3 Prozedere

Die folgenden Arbeitsschritte wurden am Institut für Ernährungsphysiologie der Universität Jena durchgeführt. Alle Arbeiten mit Chemikalien und humanem Material wurden unter dem Abzug und mit Handschuhen durchgeführt. Zu Beginn der Lipidextraktion wurden die benötigten Pyrex- und Zentrifugenröhrchen mit n-Hexan gespült, beschriftet und die Zentrifugenröhrchen einer Leerwaage

unterzogen. Im angeschalteten Ultraschallbad wurde in den gespülten Pyrexröhrchen 2ml Methanol vorgelegt und mit Filterpipettenspitzen 500µl der Probe (Plasma bzw. Erythrozyten) hinzugefügt. Sofortiges Schütteln mittels Vortex bei hoher Drehzahl im Anschluss erzeugte eine homogene Lösung, welche für weitere 10 Minuten in das Ultraschallbad gestellt wurde (falls bei dem Zugeben der Erythrozytenproben in Methanol Aggregate von verklumpten Erythrozyten entstanden, wurden diese durch mehrmaliges Schütteln und Zerdrücken mit einem Glasstab beseitigt). Nach 10 Minuten wurde den Proben 4ml Chloroform als Lösungsmittel für die Lipide hinzugefügt, dies dann mit dem Vortex gemischt und für weitere 30 Minuten in das Ultraschallbad gestellt, wobei die Proben alle 5 Minuten zum erneuten Mischen mittels Vortex entnommen wurden. Nach Ablauf der 30 Minuten wurden den Proben 2ml 2%ige NaCl-Lösung hinzugegeben, geschüttelt und im Anschluss zur Phasentrennung bei 3570g (4000rpm) für 5 Minuten zentrifugiert. Die lipidhaltige Phase befand sich danach am unteren Pol des Reagenzglases und wurde mittels Pasteurpipetten abgenommen und über weitere Säulchen in die gewogenen Zentrifugenröhrchen überführt. Der Vorgang der Extraktion wurde ein weiteres Mal wiederholt (Zugabe von 1 ml Chloroform zu der Probe, Schütteln mittels Vortex, 5 Minuten bei 3570g (4000rpm) zentrifugieren und Phase abnehmen), um möglichst viel Lipid aus der Probe herauszulösen. Das Chloroform-Lipidgemisch wurde im Anschluss mit N<sub>2</sub> begast, um das Lösungsmittel vollständig verdampfen zu lassen. Das verbleibende extrahierte Lipid wurde mittels Rückwaage der Zentrifugenröhrchen quantifiziert.

## 4.4 Dünnschichtchromatographie

### 4.4.1 Prinzip

Die Dünnschichtchromatographie dient der Auftrennung von Stoffgemischen in Subfraktionen, in unserem Fall der Lipide, aus den Blutproben in z.B. Triacylglycerine, Cholesterolester, freie Fettsäuren, Phospholipide etc.. Die Trennung erfolgt aufgrund unterschiedlicher Wechselwirkungen der funktionellen Gruppen der Moleküle aus der aufgetragenen Probe mit der stationären Phase (z.B. Kieselgel) und der mobilen Phase (meist unpolare organische Lösungsmittel, auch Laufmittel genannt). Das Laufmittel wandert mittels Kapillarkräften durch die Kieselgelmatrix, zieht dabei die Probenmoleküle mit sich, die sich entsprechend ihrer unterschiedlichen Adsorptionswechselwirkungen an charakteristischen Orten auf der stationären Phase einfinden. Trägt man zusätzlich zu der zu trennenden Probe einen Standard auf, dessen Zusammensetzung und Wanderungsverhalten bekannt sind, so ist es möglich, gezielt die einzelnen Subfraktionen der Probe zu identifizieren und zu isolieren.

### 4.4.2 Benötigte Materialien

- Geräte und Hilfsmittel
  - **DC-Platten** HPTLC Silica gel F<sub>254</sub> – Merck KGaA, Darmstadt
  - **UV-Luminator** - CAMAG, Muttenz, Schweiz
  - **Laufkammer**
  - **Pipetten** (Transferpette®) – BRAND GmbH & Co.KG, Wertheim
  - **Pipettenspitzen** - BRAND GmbH & Co.KG, Wertheim
  - **Säulchen** (Pasteurpipette mit Glaswolle gestopft und Natriumsulfat)
  - **Schaber**
  - **Spritze**
  - **Messzylinder** 100ml
  - **Bechergläser**
  - **Schliffröhrchen**
  - **Glastrichter**
  - **Bleistift**
- Chemikalien und Reagenzien
  - **Chloroform** HiPerSolv CHROMANORM® - VWR, Darmstadt
  - **Methanol** HiPerSolv CHROMANORM® - VWR, Darmstadt
  - **n-Hexan** HiPerSolv CHROMANORM® - VWR, Darmstadt
  - **Diethylether** - Carl Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe
  - **konzentrierte Essigsäure** - Carl Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe
  - **Aqua dest.**
  - **2',7'- Dichlorfluorescein** – Sigma-Aldrich, Steinheim
  - **DC- Standard**

### 4.4.3 Prozedere

Um aus den Plasmalipiden die Fraktionen der Triacyglycerine, Cholesterolester und Phospholipide zu isolieren, wurde ein Laufmittel hergestellt, welches aus 85 ml n-Hexan, 15 ml Diethylether und 0,2 ml konzentrierter Essigsäure bestand. Dieses wurde zur Konditionierung der Laufkammern ca. 1-2 Stunden vor Einsetzen der Kieselgelplatten in die Laufkammern gefüllt und diese mit Glasdeckeln bedeckt. Danach wurden die Kieselgelplatten mittels Bleistift beschriftet und Markierungen für die aufzutragenden Proben angefertigt (die Markierungen für die Proben wurden auf einer Länge von 2,5 cm, für den Standard punktuell aufgetragen, zwischen den Proben und zum Rand der Platten wurde ein Abstand von mindestens 1,5 cm beibehalten). Darauf wurde der Lipidextrakt in 150 µl Chloroform mittels einer mit Chloroform gespülten Spritze aufgenommen und auf die 2,5 cm lange Markierung strichförmig aufgetragen. Um das Lipid möglichst vollständig aus den Zentrifugenröhrchen zu lösen, wurden diese noch einmal mit 50 µl Chloroform gespült und auch dieser Teil auf die Platten

aufgetragen. Von dem Standard wurden punktuell 10 µl aufgetragen. Danach wurden die Platten für eine Stunde in die zugedeckten Laufkammern gestellt. Nach Ablauf der Zeit trockneten die Platten für ca. 5 Minuten unter dem Abzug, wurden anschließend mit 2',7'-Dichlorfluorescein besprüht und erneut zum Trocknen unter den Abzug gelegt. Im Anschluss konnten unter dem UV-Luminator (Wellenlänge 366 nm) die getrennten Banden identifiziert und markiert werden (siehe Abb. 6). Die Banden der TAG-, CE- u. PL- Fraktionen wurden mittels Schaber von der Kieselgelplatte gelöst und über einen Trichter in Schliffröhrchen aufgenommen. Dort wurden sie mit 2 ml Methanol und 1,5 ml Chloroform in Lösung gebracht.

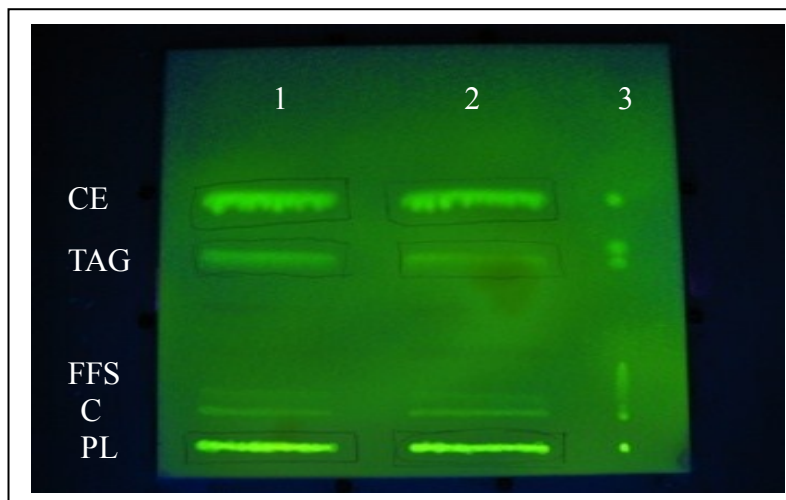


Abbildung 6: Dünnschichtchromatogramm des Plasmalipidextraktes (Reihen 1 und 2) und eines Standardlipidgemisches (Reihe 3) durch Dünnschichtchromatographie mit einem Laufmittelgemisch aus 70 ml Hexan, 30 ml Diethylether und 1 ml Eisessig. CE=Cholesterinester, TAG=Triacylglycerine, FFS=freie Fettsäuren, C=Cholesterin, PL=Phospholipide

Mit dem verwendeten Laufmittel konnten somit die für die Auswertung relevanten Lipidgruppen Triacylglycerine, Cholesterolester und Phospholipide aus dem Plasma isoliert werden. Um die Phospholipide, Sphingomyelin und Phosphatidylethanolamin aus den Lipiden der Erythrozytenmembran zu gewinnen, wurde zuerst eine Dünnschichtchromatographie nach oben beschriebener Methode durchgeführt. Im Anschluss wurde die PL-Fraktion von der Kieselgelplatte abgekratzt und erneut einer Dünnschichtchromatographie mit einem anderen Laufmittel, welches aus 50 ml Chloroform, 37,5 ml Methanol, 3,5 ml konzentrierter Essigsäure sowie 2 ml Aqua dest. bestand, unterzogen. Von den erhaltenen Banden (siehe Abb. 7) wurde die SM-Fraktion und die PE-Fraktion isoliert und mit 2 ml Methanol und 1,5 ml Chloroform in Lösung gebracht.

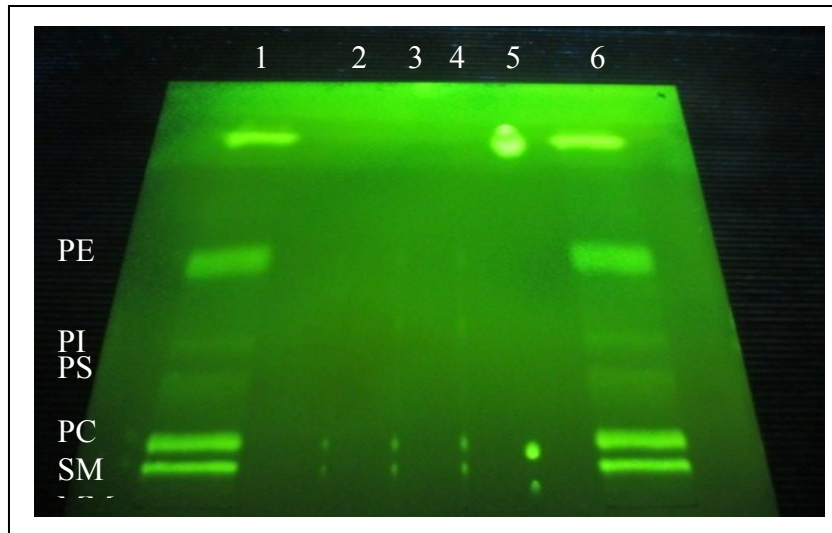


Abbildung 7: Dünnschichtchromatogramm des Erythrozytenlipidextraktes (Reihen 1 und 6) und eines Standardphospholipid- bzw. Standardlipidgemisches (Reihen 2-5) durch Dünnschichtchromatographie mit einem Laufmittel aus 50 ml Chloroform, 37,5 ml Methanol, 3,5 ml Eisessig und 2 ml destilliertem Wasser. PE=Phosphatidylethanolamin, PI=Phosphatidylinositol, PS=Phosphatidylserin, PC=Phosphatidylcholin, SM=Sphingomyelin

## 4.5 Extraktion der Lipide aus der Kieselgelmatrix

### 4.5.1 Prinzip

Um die isolierten Lipidfraktionen aus dem Kieselgel herauszulösen, wird durch Zugabe von Methanol und Chloroform, dem Schütteln und Zentrifugieren eine Phasentrennung in lipidhaltige und wässrige Phase erzeugt.

### 4.5.2 Benötigte Materialien

- Geräte und Hilfsmittel
  - **Ultraschallbad** (Sonorex RK 106) – BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Berlin
  - **Zentrifuge** (Rotina 46) – Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen
  - **Waage** (LP620S) – Sartorius AG, Göttingen
  - **Reagenzglasschüttler** (Vibrax VXR) - IKA Works, Inc., Wilmington, USA
  - **N<sub>2</sub>-Evaporator**, beheizbar - Gebr. Liebisch GmbH & Co. KG, Bielefeld
  - **Pipetten** (Transferpette®) – BRAND GmbH & Co.KG, Wertheim
  - **Pipettenspitzen** - BRAND GmbH & Co.KG, Wertheim
  - **Pasteurpipetten** - BRAND GmbH & Co.KG, Wertheim
  - **Pyrexröhrchen**
  - **Bechergläser**

- **Deckel mit Septen**
- **Pasteurpipetten**
- Chemikalien und Reagenzien
  - **Chloroform** HiPerSolv CHROMANORM® - VWR, Darmstadt
  - **Methanol** HiPerSolv CHROMANORM® - VWR, Darmstadt
  - **N<sub>2</sub>** - Linde AG, Pullach

### 4.5.3 Prozedere

Die mit 2 ml Methanol und 1,5 ml Chloroform versetzten Lipide wurden für 7 Minuten in das Ultraschallbad gestellt. Nach jeweils 5 min Mischen durch Reagenzglasschüttler sowie Zentrifugieren (3570 g, 4000 rpm) konnte mittels Pasteurpipetten die obere lipidhaltige Phase in ein gewogenes Pyrexröhrchen überführt werden. Dieser Vorgang wurde noch zweimal mit jeweils 1 ml Methanol und 1 ml Chloroform wiederholt, um das Lipid möglichst komplett aus dem Kieselgel herauszulösen. Im Anschluss wurde das Chloroform mittels Stickstoff verdampft und eine Rückwaage der Pyrexröhrchen durchgeführt.

## 4.6 Methylierung

### 4.6.1 Prinzip

Um die gewonnenen Lipidfraktionen in ihrer Fettsäurezusammensetzung untersuchen zu können, müssen diese für die Gaschromatographie zugänglich gemacht werden. Dazu werden die Fettsäuren von ihrem Bindungspartner (bei Triacylglyceriden und Phospholipiden das Glycerin, bei Cholesterolestern das Cholesterin, bei Sphingomyelin das Sphingosin) getrennt und mit einer Methylgruppe versehen. Als Methylgruppendonator dient Methanol, wobei als Katalysator entweder eine Säure oder Base dienen kann. Eine Reaktion katalysiert mittels einer Base bietet den Vorteil, dass sowohl niedrigere Temperaturen als auch eine kürzere Reaktionszeit als bei einer Säure-vermittelten Reaktion notwendig sind. Allerdings ist es nicht möglich, in einer Base-vermittelten Reaktion auch freie Fettsäuren zu methylieren (Ichihara & Fukubayashi, 2010). Daher nutzten wir für unsere Fettsäuremethylester- (FAME, fatty acid methyl ester) Präparation methanolische HCL, 3N. Die Veresterung läuft dabei nach folgender Reaktionsgleichung ab:



Als Katalysator dient HCL, die ein Proton an die Carboxylgruppe der Fettsäure abgibt und diese reaktionsfreudig macht. Im nächsten Schritt verbindet sich Methanol mit der neu entstandenen Hydroxylgruppe, wobei Wasser abgespalten wird und die Methylgruppe bei der Fettsäure verbleibt. Die entstehenden FAME können mittels Gaschromatographie identifiziert und quantifiziert werden.

### 4.6.2 Benötigte Materialien

- Geräte und Hilfsmittel
  - **Brutschrank** – Binder GmbH & CO.KG, Tuttlingen
  - **Vortex** (MS1 Minishaker) – IKA Works Inc., Wilmington, USA
  - **Reagenzglasschüttler** (Vibrax VXR) - IKA Works Inc., Wilmington, USA
  - **N<sub>2</sub>-Evaporator**, beheizbar - Gebr. Liebisch GmbH & Co.KG, Bielefeld
  - **Zentrifuge** (Rotina 46) – Hettich- Zentrifugen GmbH & Co.KG, Tuttlingen
  - **Pipetten** (Transferpette®) – BRAND GmbH & Co.KG, Wertheim
  - **Pipettenspitzen** - BRAND GmbH & Co.KG, Wertheim
  - **Pasteurpipetten** - BRAND GmbH & Co.KG, Wertheim
  - **Säulchen** (Pasteurpipette mit Glaswolle gestopft und Natriumsulfat)
  - **Spritze**
  - **Zentrifugenröhrchen** (konisch)
  - **Bechergläser**
  - **Autosampler Vials** (Rotilabo®) - Carl Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe
  - **Microinserts** - Carl Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe
  - **Schraubkappen mit Bohrung** - Carl Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe
  - **Teflonsepten** - Carl Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe
- Chemikalien und Reagenzien
  - **methanolische HCL** (3N) Kit – Sigma Aldrich Co. , St. Louis
  - **Methanol**, getrocknet - Merck KGaA, Darmstadt
  - **Aceton** - HiPerSolv CHROMANORM® - VWR, Darmstadt
  - **Hexan** - HiPerSolv CHROMANORM® - VWR, Darmstadt
  - **N<sub>2</sub>** - Linde AG, Pullach
  - **Aqua dest.**

### 4.6.3 Prozedere

Zu Beginn wurden den gewogenen Pyrexröhrchen aus dem vorhergehenden Schritt 12,5 µl interner Standard (C19:0, eine im menschlichen Körper nicht vorkommende Fettsäure) zur Quantifizierung der in der Probe vorkommenden Fettsäuren mittels einer Spritze hinzugefügt. Darauf wurde die methanolische HCL 1:1 mit getrocknetem Methanol gemischt, sodass eine 5%ige Lösung vorlag (hohe Konzentrationen des Katalysators können zu ungewollten, undetektierbaren Nebenprodukten führen). Zusätzlich zu 0,5 ml dieser 5%igen methanolischen HCL-Lösung wurde den Proben 0,5 ml Aceton hinzugefügt, die Pyrexröhrchen dicht verschlossen und für 60 Minuten bei 80°C in den Brutschrank gestellt. Vor, während (alle 15 Minuten) und nach der Inkubationszeit wurden die Proben bei niedriger Drehzahl (<1000 rpm) mit dem Vortex gemischt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurden den Proben 1 ml Aqua dest. und 2 ml Hexan hinzugegeben und diese für 5 min bei niedriger Drehzahl



(<1000 rpm) auf dem Reagenzglasschüttler gemischt. Die durch Methylierung erhaltenen FAME lösten sich dabei in der lipophilen Hexanphase, welche nach 5 minütiger Zentrifugation (3570 g, 4000 rpm) mittels Pasteurpipetten abgenommen werden konnte. Um mögliche Verunreinigungen zu minimieren, wurde die Lipidphase über Natriumsulfat- und Glaswolle- gefüllte Säulchen in gespülte Zentrifugenröhrchen überführt. Danach wurde noch zweimal nach oben genannter Methode mit 2 ml Hexan extrahiert und auch die Säulchen zum Schluss mit 1 ml Hexan gespült, um möglichst alle FAME aus der Probe zu erhalten. Das Lösungsmittel wurde im Anschluss mit Stickstoff verdampft, die verbliebenen FAME erneut in 150 µl Hexan aufgenommen und in beschriftete Autosampler Vials mit Microinserts gegeben. Bis zu der Messung mittels Gaschromatographen wurden die Proben bei -20°C gelagert.

## **4.7 Gaschromatographie und Auswertung**

Die Gaschromatographie dient, wie auch andere chromatographische Verfahren, der Auftrennung von Stoffgemischen, um sowohl Art als auch Menge der Bestandteile identifizieren zu können. Die Trennung erfolgt aufgrund unterschiedlicher Wechselwirkungen der Bestandteile des Stoffgemisches mit der mobilen und stationären Phase. Bei der Gaschromatographie besteht die mobile Phase aus einem Gas, auch Trägergas genannt, bei dem es sich in den meisten Fällen um Wasserstoff, Helium, Stickstoff oder Argon handelt. Bei der stationären Phase in der Gaschromatographie handelt es sich um Trennsäulen aus Quarzglas, welche innen mit verschiedensten Stoffen beschichtet werden können (zum Beispiel Silikon, Polyether, Polyester oder Polyamide). Zu Beginn einer Messung wird ein geringer Teil des zu analysierenden Stoffgemisches (in unserem Fall 1 µl) von dem Injektionssystem des Geräts aufgenommen und bei 260°C verdampft. Danach wird es mit Hilfe des Trägergases unter einem bestimmten Druck durch die Kapillaren der Trennsäule gedrückt und interagiert mit der stationären Phase. Am Ende der Trennsäule befindet sich der Detektor, dessen Aufgabe es ist, aus den getrennten Stoffen, die ihn erreichen, auswertbare Informationen zu generieren. Dies geschieht in den meisten Fällen mittels Flammenionisationsdetektor (FID). Dabei wird mittels Knallgasflamme der Ablauf aus der Trennsäule (Eluat) verbrannt und zwischen zwei Elektroden die Ionisation gemessen. Erreicht den Detektor dabei eine kohlenstoffhaltige Verbindung, ergibt deren Verbrennung eine höhere Ionisation, die in ein Messsignal umgewandelt wird. Ein Registriergerät wandelt diese Messsignale nach ihrer zeitlichen Abfolge in ein Chromatogramm um, welches im Anschluss ausgewertet werden kann. Grundsätzlich durchlaufen kurzkettige Fettsäuren die Trennsäule schneller als langkettige Fettsäuren, wodurch sich für jede Fettsäure eine charakteristische Zeit bis zum Erreichen des Detektors ergibt (Retentionszeit). Mit der Software Lab Solutions/ GC-Solution (Version 2.3, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) können die Retentionszeiten der Fettsäuren aus der Probe mit denen von bekannten Standards verglichen werden und somit auf die Fettsäurezusammensetzung der Probe geschlossen werden. Des Weiteren errechnet das Programm den jeweiligen prozentualen Anteil einer Fettsäure an der Gesamtheit aller in der Probe vorhandenen

identifizierten Fettsäuren. Mit diesen Werten wurde im Folgenden die statistische Auswertung durchgeführt.

Alle Proben der Probanden wurden zuerst auf der GC3 (SHIMADZU GC 17A) am Institut für Ernährungsphysiologie der Friedrich Schiller Universität Jena gemessen. Dieser Gaschromatograph besitzt eine Trennsäule mit einer Länge von 60 Metern, deren Trennschärfe nicht ausreichend ist, um auch die Isomeren der Transfettsäuren zu detektieren. Da mit zunehmender Länge der Trennsäule die Trennschärfe zunimmt, wurden die Proben zusätzlich auf der GC4 (SHIMADZU 2010) gemessen, die mit einer 200 Meter langen Trennsäule eine Auftrennung der Transfettsäuren erlaubt. Die Parameterdaten der Gaschromatographen finden sich im Anhang (Schumann et al. 1989).

## **4.8 Statistische Auswertung**

Die statistische Auswertung erfolgte mittels IBM SPSS Statistics 21. Zu Beginn der statistischen Auswertung wurden die testtheoretischen Voraussetzungen für die Verwendung von parametrischen Verfahren geprüft. Hierfür wurden der Kolmogorov-Smirnov-Test sowie der Shapiro-Wilk Test herangezogen. Ausreißer, identifiziert mittels Boxplots ab außerhalb der 2-fachen Standardabweichung, wurden aus der Auswertung ausgeschlossen. Dies betraf Einzelfälle. Um Unterschiede in der Fettsäureverteilung zwischen Patienten und Kontrollen feststellen zu können, wurde im Anschluss für normalverteilte und varianzhomogene Daten der t-Test für unabhängige Stichproben, für normalverteilte Daten, die jedoch keine Varianzhomogenität aufwiesen, der Welch-Test und für nicht normalverteilte Daten der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt (nichtparametrischer Test für unabhängige Stichproben).

Um der Fragestellung nachzugehen, inwieweit die Fettsäureprofile von den ernährungsabhängigen Lipidfraktionen (TAG-, CE-, PL-Fraktionen des Plasmas) mit den ernährungsunabhängigen Lipidfraktionen (SM- u. PE-Fraktion der Erythrozyten) zusammenhängen, wurde im Anschluss eine Korrelationsanalyse von Summenwerten (SFA, MUFA, PUFA, TFA, n3-FA, n6-FA) zwischen den verschiedenen Lipidfraktionen, getrennt nach Kontrollen und Patienten, durchgeführt. Das Maß des Zusammenhangs wurde mit dem Pearson'schen Korrelationskoeffizienten berechnet, wobei ein signifikantes Ergebnis ab einem  $\alpha < 0,05$  angenommen wurde.

## **5 Ergebnisse**

### **5.1 Unterschiede der Fettsäurekonzentrationen zwischen Patientengruppe und Kontrollgruppe**

Um der Frage nachzugehen, ob sich im Krankheitsstadium der ersten Akutmanifestation medikamentennaiver schizophrener Patienten bereits Alterationen im Fettsäureprofil verschiedener Lipidfraktionen zeigen, wurde zu Beginn der Auswertung ein Gruppenvergleich zwischen Patienten und Kontrollgruppe durchgeführt. Dabei wurden drei Lipidfraktionen des Plasmas und zwei Lipidfraktionen aus der Erythrozytenmembran einbezogen.

Abweichende Zahlen für den Stichprobenumfang (n) von der Grundgesamtheit (33 Patientenproben und 32 Kontrollproben) resultieren aus nicht auswertbaren oder artefaktbehafteten Fettsäuren aus den Chromatogrammen bzw. sind Ergebnis ausgeschlossener Extremwerte. Die folgenden Ergebnistabellen beinhalten Vergleiche von Summenwerte der jeweiligen Fettsäurefamilie sowie diverser Quotienten, die in diesem Forschungsgebiet auch bereits von anderen Arbeitsgruppen verwendet wurden. Da Summenwerte und Quotienten für die nachfolgende Interpretation vorrangig sind, wurden sie in den Ergebnistabellen grau unterlegt. Darüber hinaus beinhalten die Ergebnistabellen die Ergebnisse der Einzel-Fettsäuren geordnet nach gesättigten Fettsäuren (SFA), einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA), sowie Omega-6- und Omega-3-Fettsäuren mit jeweils signifikanten Konzentrationsunterschieden. Fettsäuren mit Werten an der unteren Nachweisgrenze bzw. einer Konzentration von  $< 0,1\text{mol}\%$  wurden als weniger aussagekräftig eingeschätzt und durch eine graue Schriftfarbe gekennzeichnet. Aus Gründen der Übersicht und der Fülle an Daten und Einzelergebnissen finden sich die vollständigen Fettsäureprofile im Anhang.

#### **5.1.1 Triacylglyceride des Plasmas**

Die TAG des Plasmas spiegeln mit ihrer Fettsäureverteilung die kürzlich mit der Nahrung zugeführten Fettsäuren wider. Zur Vermittlung der Löslichkeit im Plasma werden sie mittels Lipoproteinen zu den Organen transportiert, die sie als wichtige Energiequelle bzw. -speicher nutzen (Details s.o.).

Die Hauptfettsäuren dieser Lipidfraktion sind die Ölsäure (C-18:1c9), die Palmitinsäure (C-16:0) und die Linolsäure (LA, C-18:2n6). In der Gesamtheit stellen die einfach ungesättigten Fettsäuren (monounsaturated fatty acids, MUFA) mit fast 50% den größten Anteil der Fettsäuren in den Triacylglyceriden dar.

Tabelle 3: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der TAG-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol%

Fettsäure TAG	Patienten (FEP)			Kontrollen (HC)			FEP vs. HC	
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	p	
C-14:0	31	2,1850	1,163	33	2,4510	0,961	##	HC > FEP
C-15:1iso	29	0,0817	0,041	29	0,0939	0,029	##	HC > FEP
C-16:0	31	27,7383	3,457	33	28,1042	3,428		
C-18:0	31	3,8288	1,167	33	3,8336	0,759		
C-18:1t12	29	0,0961	0,038	30	0,0818	0,021	#	FEP > HC
C-18:1c9 (OA)	31	38,7596	3,855	33	38,8408	4,266		
C-20:1c11	29	0,3004	0,076	33	0,3619	0,089	*/**	HC > FEP
C-22:1c13	30	0,0232	0,017	33	0,0293	0,016	**	HC > FEP
C-18:2n6 (LA)	31	12,2942	2,602	30	11,0234	2,258	*/**	FEP > HC
C-18:3n6 (GLA)	31	0,2704	0,141	33	0,2295	0,110		
C-20:4n6 (AA)	31	0,7236	0,223	33	0,6929	0,221		
C-22:4n6	30	0,2371	0,050	32	0,2661	0,074	#	HC > FEP
C-18:3n3 (ALA)	31	0,8177	0,243	33	0,8438	0,354		
C-20:3n3	31	0,0279	0,013	33	0,0339	0,014	#/**	HC > FEP
C-20:5n3 (EPA)	29	0,1676	0,065	33	0,1478	0,075		
C-22:5n3 (DPA)	31	0,2178	0,085	33	0,1829	0,061	#	FEP > HC
C-22:6n3 (DHA)	30	0,3099	0,137	32	0,2393	0,103	*/**	FEP > HC
ΣSFA	31	36,8637	5,125	33	37,3576	4,175		
ΣMUFA	31	46,9373	3,764	33	47,0004	3,816		
ΣPUFA	31	16,1765	2,992	30	14,6153	2,553	*/**	FEP > HC
ΣC-18:1tFS	31	0,7691	0,252	31	0,7632	0,196		
Σn3-FS	31	1,6453	0,431	33	1,5373	0,459		
Σn6-FS	31	14,3105	2,725	30	12,8687	2,404	*/**	FEP > HC
AA/EPA	31	4,4264	1,661	33	5,4285	2,037	*/**	HC > FEP
n3-FS/n6-FS	30	0,1128	0,021	33	0,1168	0,040		

\* sig. Ergebnisse bei parametrischen Tests

\*\* sig. Ergebnisse bei non-parametrischen Tests

# Trendlevel (p<.1) parametrisch

## Trendlevel (p<.1) bei non-parametrisch

SFA saturated fatty acids, gesättigte Fettsäuren

MUFA monounsaturated fatty acids, einfach ungesättigte Fettsäuren

PUFA polyunsaturated fatty acids, mehrfach ungesättigte Fettsäuren

AA Arachidonsäure

EPA Eicosapentaensäure

In den **Summenwerten** fanden sich bei den Patienten signifikant höhere Gesamt-n6-FS sowie Gesamt-PUFA. Auf Einzel-FS-Niveau war bei den **mehrfach ungesättigten Fettsäuren** die Erhöhung der LA, DHA (Docosahexaensäure, C-22:6n3) und im Trend der DPA (Docosapentaensäure, C-22:5n3) bei Patienten auffällig. Der AA/EPA Quotient war bei den Patienten erniedrigt. Ein signifikanter Unterschied ergab sich auch bei der **einfach ungesättigten Fettsäure** C-20:1c11, bei der Patienten eine niedrigere Konzentration aufwiesen. Ebenso ergab sich bei Betrachtung der **gesättigten Fettsäuren** eine im Trend signifikante Verminderung der C-14:0 Konzentration bei Patienten.

### 5.1.2 Cholesterolester des Plasmas

Cholesterolester werden gebildet, um den Transport von Cholesterin im Plasma mittels Lipoproteinen zu gewährleisten. Die veresterte Fettsäure stammt aus den Phospholipiden des Plasmas und wird von der LCAT auf Cholesterin übertragen (siehe auch Einleitung zum Fettstoffwechsel).

In der Fraktion der Cholesterolester nimmt die Linolsäure (LA, C-18:2n6) mit rund 51% den Hauptanteil der Fettsäuren ein. Weiterhin machen die Ölsäure (C-18:1c9) und die Palmitinsäure (C-16:0) einen hohen Anteil aus. Die Mehrzahl der Fettsäuren ist mehrfach ungesättigt.

*Tabelle 4: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der CE-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol%,*

Fettsäure CE	Patienten (FEP)			Kontrollen (HC)			FEP vs. HC	
	n	MW	SD	n	MW	SD	p	
C-12:0	31	0,2215	0,065	32	0,1957	0,052	###	FEP > HC
C-16:0	31	12,2222	0,816	33	12,2513	0,784		
C-17:0	31	0,1271	0,016	33	0,1202	0,021	##	FEP > HC
C-18:0	30	1,1679	0,223	33	1,0985	0,221		
C-24:0	31	0,0294	0,014	32	0,0218	0,009	*/**	FEP > HC
C-16:1t9	31	0,0210	0,010	32	0,0174	0,007	#	FEP > HC
C-16:4n1	31	0,0111	0,004	33	0,0094	0,004	##/**	FEP > HC
C-16:1t6,t7	30	0,0253	0,011	32	0,0203	0,010	*/**	FEP > HC
C-18:1c9 (OA)	31	20,3802	2,129	33	20,4751	2,093		
C-18:1t6,t7	31	0,0203	0,015	33	0,0295	0,017	*/**	HC > FEP
C-18:2n6 (LA)	31	51,0885	3,264	33	50,9692	3,383		
C-18:3n6 (GLA)	31	0,6547	0,333	33	0,6254	0,211		
C-20:4n6 (AA)	31	4,3555	0,939	33	4,4956	0,663		
C-18:3n3 (ALA)	31	0,4444	0,105	33	0,4595	0,123		
C-20:5n3 (EPA)	31	0,5998	0,246	33	0,5244	0,222		
C-22:3n3	31	0,0077	0,005	33	0,0049	0,003	*/**	FEP > HC
C-22:5n3 (DPA)	31	0,0221	0,010	33	0,0155	0,008	*/**	FEP > HC
C-22:6n3 (DHA)	31	0,3235	0,088	33	0,2835	0,069	*/###	FEP > HC
ΣSFA	31	15,9056	0,995	33	15,7065	1,004		
ΣMUFA	31	25,5731	2,514	33	25,8545	2,643		
ΣPUFA	31	58,5213	2,930	33	58,4390	3,006		
ΣC-18:1tFS	31	0,2057	0,056	33	0,2148	0,058		
Σn3-FS	31	1,4672	0,326	33	1,3596	0,341		
Σn6-FS	31	56,9675	3,021	33	56,9981	3,130		
AA/EPA	31	8,3879	3,505	33	9,8107	3,696		
n3-FS/n6-FS	31	0,0259	0,006	32	0,0234	0,006	##	FEP > HC

\* sig. Ergebnisse parametrisch

\*\* sig. Ergebnisse bei non-parametrisch

# Trendlevel (p<.1) parametrisch

## Trendlevel (p<.1) bei non-parametrisch

Auf **Summenniveau** zeigt sich lediglich ein Trend für einen erhöhten n3-FS/n6-FS-Quotienten bei Patienten. Entsprechend fanden sich auf Einzel-FS-Niveau höhere Werte in der Patientengruppe für die **Omega-3-Fettsäuren** DHA (s.a. Ergebnis bei TAG), C-22:3n3 und C-22:5n3 (DPA). Zu beachten sind die sehr niedrigen Konzentrationen der C-22:3n3 und C-22:5n3, die jeweils jenseits der selbstgewählten Verlässlichkeitsgrenze liegen.

Bei **einfach ungesättigten und gesättigten Fettsäuren** zeigten sich auf Einzel-FS-Niveau keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollpersonen.

### 5.1.3 Phospholipide des Plasmas

Die Phospholipide des Plasmas bilden, zusammen mit den Apolipoproteinen, die Hülle der Lipoproteine. Ihr Fettsäureprofil sagt etwas über die Fettaufnahme während der vergangenen Wochen bis Monate aus und wird durch die endogene FS-Synthese und die Aktivität der entsprechenden Enzyme beeinflusst(s.a. Einleitung). Den PL des Plasmas könnte eine Zwischenstellung zw. ernährungsabhängig- u. –unabhängig zugewiesen werden, quasi eine zeitlich mittelbare Abhängigkeit.

Die am höchsten konzentrierten Fettsäuren der Phospholipidfraktion des Plasmas sind die Palmitinsäure (C-16:0), die Linolsäure (LA, C-18:2n6), die Stearinsäure (C-18:0) und die Ölsäure (C-18:1c9). Auch die Arachidonsäure nimmt in dieser Fraktion mit einem Anteil von ~7% einen relativ hohen Anteil ein. Insgesamt machen die gesättigten Fettsäuren über 50% der Gesamtfettsäuren dieser Fraktion aus.

*Tabelle 5: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der PL-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol%*

Fettsäure PL	Patienten (FEP)			Kontrollen (HC)			FEP vs. HC	
	n	MW	SD	n	MW	SD	p	
C-16:0	31	32,0687	2,343	33	32,0237	1,967		
C-18:0	30	15,6694	1,567	33	15,5346	1,528		
C-21:0	30	0,0412	0,016	33	0,0353	0,015	##	FEP > HC
C-18:1t6,t7,t8	31	0,0410	0,014	33	0,0343	0,012	*/##	FEP > HC
C-18:1t9	31	0,0999	0,024	32	0,0874	0,013	*/**	FEP > HC
C-18:1t12	31	0,0782	0,023	33	0,0670	0,018	*/##	FEP > HC
C-18:1t13	31	0,0527	0,022	33	0,0436	0,012	*	FEP > HC
C-18:1c9 (OA)	31	10,6180	1,443	33	10,6345	1,027		
C24:1c15 (NA)	31	1,2084	0,241	33	1,1797	0,199		
C-18:2n6 (LA)	31	19,3273	2,114	33	19,7932	2,050		
C-20:2n6	31	0,2609	0,055	33	0,2979	0,053	*/**	HC > FEP
C-20:4n6 (AA)	31	7,1586	1,326	33	7,3913	1,148		
C-22:5n6	31	0,1500	0,032	33	0,1723	0,052	**	HC > FEP
C-18:3n3 (ALA)	31	0,1879	0,050	33	0,2087	0,074		
C-20:5n3 (EPA)	30	0,6821	0,305	33	0,5730	0,224		
C-22:6n3 (DHA)	31	1,9809	0,615	33	1,7463	0,497	###	FEP > HC

$\Sigma$ SFA	31	51,6701	1,798	33	51,1458	1,801	**	FEP > HC
$\Sigma$ MUFA	31	14,9105	1,347	33	14,9199	1,097		
$\Sigma$ PUFA	31	33,4562	2,202	33	33,9749	2,143		
$\Sigma$ C-18:1tFS	31	0,5301	0,120	33	0,4885	0,106		
$\Sigma$ n3-FS	31	3,6746	0,959	33	3,2596	0,591	*/##	FEP > HC
$\Sigma$ n6-FS	31	29,7816	1,941	33	30,7153	2,097	#/**	HC > FEP
n3-FS/n6-FS	31	0,1238	0,033	32	0,1041	0,016	*/**	FEP > HC
[MCFA C:10-C14]	31	0,5419	0,124	33	0,6032	0,127	###	HC > FEP
AA/EPA	31	12,1534	5,593	33	14,7876	6,015	###	HC > FEP

\* sig. Ergebnisse parametrisch

\*\* sig. Ergebnisse bei non-parametrisch

# Trendlevel ( $p < .1$ ) parametrisch

## Trendlevel ( $p < .1$ ) bei non-parametrisch

Auf **Summenniveau** fanden sich bei Betrachtung der PUFA signifikant höhere Konzentrationen an Omega-3-Fettsäuren ( $\Sigma$ n3) bei den Patienten, wohingegen die Omega-6-Fettsäuren ( $\Sigma$ n6) signifikant verminderte Werte aufwiesen. Auf dem **Niveau der Einzelfettsäuren** fand sich die Konzentration der DHA (Omega-3-Familie) bei Patienten im Trend erhöht, wohingegen die Vertreter der Omega-6-Familie (Eicosadiensäure (C-20:2n6) und C-22:5n6) bei Patienten vermindert waren. Daraus ergibt sich ein signifikant höherer **n3/n6 Quotient** bei den Patienten. Durch niedrigere Konzentrationen der Arachidonsäure (AA, Omega-6-Fettsäure) und höhere Werte der Eicosapentaensäure (EPA, Omega-3-Fettsäure) wiesen Patienten im Trend einen niedrigeren AA/EPA-Quotienten als Gesunde auf (ähnlich den Ergebnissen bei der TAG und CE Fraktion).

Bei der **Summe der gesättigten Fettsäuren** ( $\Sigma$ SFA) ergab die statistische Auswertung mittels nicht-parametrischer Tests signifikant höhere Werte bei Patienten. Bei den **gesättigten Einzel-Fettsäuren** der PL-Fraktion des Plasmas zeigten sich im Trend höhere Werte der Heneicosansäure (C-21:0) bei Patienten. Da die Konzentration jedoch sehr niedrig war ( $<0,1\%$ ), müssen spätere Interpretationen dieses Ergebnisses mit Zurückhaltung erfolgen.

**Zusammenfassend** kann man bei der Auswertung der ernährungsabhängigen Plasmalipidfraktionen feststellen, dass die Patienten im Trend höhere Konzentrationen an n3-FS zu verzeichnen haben, während sie bei den n6-FS Defizite gegenüber den Kontrollprobanden aufweisen. Am deutlichsten ist dieser Unterschied in den Fraktionen der Cholesterinester und Phospholipide.

### 5.1.4 Sphingomyelin der Erythrozytenmembran

Wir wenden uns nun den weitgehend ernährungsunabhängigen Lipidfraktionen zu. Auffällig in der SM-Fraktion der Erythrozyten sind hohe Konzentrationen an den langkettigen Fettsäuren Tetracosansäure (Lignocerinsäure, C-24:0) und Nervonsäure (C-24:1c15), sowie das Vorhandensein von Pentacosansäure (C-25:0) und Hexacosansäure (Cerotinsäure, C-26:0), die in anderen Fraktionen nicht oder nur in sehr geringen Konzentrationen vorzufinden waren. Zusätzlich weisen die Palmitinsäure (C-16:0) und Stearinsäure (C-18:0) hohe Konzentrationen auf. Insgesamt überwiegen in den Proben die gesättigten Fettsäuren mit >70% deutlich gegenüber den ungesättigten Fettsäuren.

Bei Betrachtung der **Summenwerte** aller C-18:1 Transfettsäuren fanden sich signifikant niedrigere Werte in der Patientengruppe. Allerdings muss hier auf die insgesamt niedrigen Konzentrationen dieser Fettsäuren hingewiesen werden (s. Verlässlichkeitsgrenze)

Bei Betrachtung der **Einzel-Fettsäuren** der Sphingomyelin-Fraktion der Erythrozyten ergaben sich signifikante Unterschiede bei der C-17:1c10 sowie bei den trans-Fettsäuren der Ölsäure (C18:1). Bei der C-18:1t9, C-18:1t10, C-18:1t12 und C-18:1t13 zeigten Patienten signifikant geringere Werte.

Bei Betrachtung **einzelner PUFA** zeigten die Dihomogammalinolensäure (DGLA, C-20:3n6) und die Arachidonsäure (AA, C-20:4n6) niedrigere Werte bei den Patienten.

**Methodisch** ist zu diesem Auswerteschritt anzumerken, dass der Datensatz durch das Fehlen von 7 Erythrozytenproben nicht vollständig ist. Die Auswertung der Chromatogramme der SM-Fraktion war außerdem durch niedrige Konzentrationen der Fettsäuren und Artefaktbildung erschwert, sodass einige Fettsäuren nicht identifizierbar und somit nicht auswertbar waren.

*Tabelle 6: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der SM-Fraktion der Erythrozytenmembran zwischen Patienten und Kontrollen in mol%*

Fettsäure SM	Patienten (FEP)			Kontrollen (HC)			FEP vs. HC	
	n	MW	SD	n	MW	SD	p	
C-12:0	26	0,6263	0,408	31	0,4784	0,406	##	FEP > HC
C-13:0	25	0,0616	0,032	30	0,0782	0,039	#	HC > FEP
C-16:0	26	24,3319	1,598	31	24,7164	2,306		
C-18:0	25	9,0370	1,271	30	9,4108	1,500		
C-20:0	26	2,1581	0,359	31	2,1215	0,332		
C-22:0	26	6,9566	0,807	31	6,9648	1,030		
C-24:0	25	18,1846	1,560	31	17,7250	2,617		
C-17:1t10	23	0,0319	0,015	28	0,0500	0,029	*/**	HC > FEP
C-17:1c10	26	0,1377	0,093	31	0,2257	0,170	*/**	HC > FEP
C-18:1t9	25	0,0888	0,051	31	0,1213	0,055	*/**	HC > FEP
C-18:1t10	25	0,0719	0,052	31	0,1012	0,048	*/**	HC > FEP
C-18:1t12	23	0,0434	0,024	29	0,0674	0,047	*/###	HC > FEP
C-18:1t13	24	0,0397	0,026	31	0,0536	0,024	*/**	HC > FEP
C-18:1t15	24	0,0322	0,014	30	0,0405	0,017	###	HC > FEP



C-18:1c9 (OA)	25	2,8549	0,930	31	2,7847	1,210	
C-24:1c15 (NA)	25	20,1828	2,465	31	19,1800	3,498	
C-18:2n6 (LA)	25	0,8554	0,270	29	0,9011	0,314	
C-20:3n6 (DGLA)	23	0,0272	0,026	26	0,0390	0,023	#/** HC > FEP
C-20:4n6 (AA)	26	0,1230	0,040	30	0,1665	0,086	*/** HC > FEP
C-22:2n6	26	2,5399	1,492	31	2,4112	2,089	
ΣSFA	26	71,5115	1,891	31	71,9970	1,989	
ΣMUFA	26	24,4587	2,333	31	24,0007	2,717	
ΣPUFA	26	4,0298	1,579	31	4,0023	2,170	
ΣC-18:1tFS	25	0,3295	0,163	31	0,4332	0,151	*/** HC > FEP
Σn3-FS	25	0,0900	0,043	31	0,0929	0,039	
Σn6-FS	26	3,7648	1,516	30	3,5488	1,829	
n3-FS/n6-FS	26	0,0290	0,015	31	0,0300	0,017	

\* sig. Ergebnisse parametrisch

\*\* sig. Ergebnisse bei non-parametrisch

# Trendlevel (p<.1) parametrisch

## Trendlevel (p<.1) bei non-parametrisch

### 5.1.5 Phosphatidylethanolamin der Erythrozytenmembran

In dieser ebenfalls weitgehend ernährungsunabhängigen Fraktion zeigten sich hohe Konzentrationen der Arachidonsäure (C-20:4n6), der Ölsäure (C-18:1c9) und der Palmitinsäure (C-16:0). Insgesamt überwiegen die mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) mit ~45%.

Tabelle 7: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der PE-Fraktion der Erythrozytenmembran zwischen Patienten und Kontrollen in mol%

Fettsäure PE	Patienten (FEP)			Kontrollen (HC)			FEP vs. HC p
	n	MW	SD	n	MW	SD	
C-16:0	27	19,8929	1,668	31	19,7560	2,017	
C-18:0	27	10,4938	1,524	32	10,7894	2,051	
C-24:0	26	0,0872	0,041	31	0,1199	0,082	# HC > FEP
C-18:1c9 (OA)	27	20,3943	1,384	31	20,4226	2,148	
C24:1c15 (NA)	26	0,0443	0,025	31	0,0595	0,035	# HC > FEP
C-18:2n6 (LA)	28	5,8510	0,803	32	5,9995	0,921	
C-20:2n6	28	0,2142	0,053	32	0,1914	0,050	#/** FEP > HC
C-20:4n6 (AA)	26	20,6393	1,450	30	21,0127	1,722	
C-22:5n6	28	0,5501	0,180	32	0,6340	0,201	# HC > FEP
C-18:3n3 (ALA)	28	0,1518	0,029	32	0,1551	0,032	
C-20:5n3 (EPA)	28	1,0784	0,386	32	0,9822	0,323	
C-22:5n3 (DPA)	26	3,7434	0,458	32	3,3177	0,861	*/** FEP > HC
C-22:6n3 (DHA)	28	4,4954	1,403	32	4,5405	1,348	
ΣSFA	26	31,4246	1,480	30	31,5780	2,478	
ΣMUFA	27	23,9629	1,683	30	23,4176	1,435	
ΣPUFA	26	44,8297	1,972	30	45,0044	2,579	
Σn3-FS	26	9,8099	1,395	30	9,4459	1,148	

$\Sigma$ n6-FS	26	35,0198	1,701	30	35,5585	2,411	##	HC > FEP
n3-FS/n6-FS	28	0,2733	0,054	32	0,2596	0,049		
AA/EPA	28	19,4229	5,307	32	21,9223	5,652	###	HC > FEP

\* sig. Ergebnisse parametrisch

\*\* sig. Ergebnisse bei non-parametrisch

# Trendlevel ( $p < .1$ ) parametrisch

## Trendlevel ( $p < .1$ ) bei non-parametrisch

Bei Betrachtung der **Summenwerte** gesättigter und ungesättigten Fettsäuren zeigten sich in der PE-Fraktion der Erythrozytenmembranen keine signifikanten Gruppenunterschiede. Die Summe der Omega-6-Fettsäuren war bei Patienten im Trend niedriger.

Im Vergleich der **Einzel-Fettsäuren** fanden sich dagegen Unterschiede bei mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Patienten wiesen signifikant höhere Konzentrationen der DPA (C-22:5n3, Omega-3-Familie) und der C-20:2n6 (Omega-6-Familie) auf. Dagegen waren Werte der 22:5n6 bei Patienten im Trend vermindert. Der AA/EPA Quotient fand sich bei Patienten im Trend vermindert.

Als methodische Limitation ist auch für diesen Auswertungsschritt anzumerken, dass die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der PE-Fraktion aufgrund fehlender Erythrozytenproben (siehe Details im Tab.) nicht für das gesamte Probandenkollektiv durchgeführt werden konnte.

**Zusammenfassend** lassen sich bei Analyse der Fettsäureverteilung in der ernährungsunabhängigen SM- und PE-Fraktion der Erythrozytenmembran signifikant verminderte Werte einzelner (z.B. DGLA und AA in SM-Fraktion) bzw. im Trend aller n6-FS bei den Patienten feststellen. Außerdem finden sich in der SM-Fraktion geringere Werte für trans-Fettsäuren bei Patienten.

## 5.2 Korrelationsanalyse

Um der Frage nachzugehen, inwiefern ein Zusammenhang zwischen der Fettsäureverteilung in ernährungsabhängigen und ernährungsunabhängigen Lipidfraktionen besteht, bzw. ob dieser Zusammenhang durch eine Pathologie beeinträchtigt ist, wurden die **Konzentrationen einiger Summenwerte** (SFA, MUFA, PUFA, n3-FS, n6-FS, n9-FS tFA) in Abhängigkeit von der Lipidfraktion, getrennt nach Patienten und Kontrollprobanden mittels des Pearson'schen Korrelationskoeffizienten auf Zusammenhänge geprüft. Der Korrelationskoeffizient ( $r$ ) kann dabei eine Größe von +1 bis -1 annehmen, wobei die Stärke der Korrelation nach der Einteilung von Zou et al. 2003 (Zou, Tuncali, & Silverman, 2003) wie folgt eingeteilt werden kann:

Tabelle 8: Interpretation des Korrelationskoeffizienten nach Pearson

Korrelationskoeffizient	Richtung und Stärke der Korrelation
-1,0	Perfekt negativ
-0,8	Stark negativ
-0,5	Mäßige negativ
-0,2	Schwach negativ
0,0	Kein Zusammenhang
+0,2	Schwach positiv
+0,5	Mäßig positiv
+0,8	Stark positiv
+1,0	Perfekt positiv

Aus Übersichtlichkeitsgründen der Ergebnisdarstellung soll hier noch einmal auf den Bestimmungsort der verschiedenen Lipidfraktionen hingewiesen werden: die Fettsäureprofile der Triacylglyceride (TAG), Cholesterolester (CE) sowie Phospholipide (PL) wurden im Plasma von Patienten und Kontrollen bestimmt und gelten als eher ernährungsabhängig; die Fettsäureprofile der Phosphatidylethanolamin- (PE) und Sphingomyelinfraktion (SM) wurden aus der Erythrozytenmembran bestimmt und gelten als ernährungsunabhängig. Die vollständigen Ergebnistabellen finden sich im Anhang auf Seite 77-82. Im Folgenden werden die wesentlichen Ergebnisse zusammengefasst:

### 5.2.1 Gesättigte Fettsäuren (SFA)

In der Gruppe der Kontrollpersonen zeigte sich eine signifikant negative Korrelation ( $r=-0,446$ ,  $p=0,017$ ) zwischen Werten der TAG- und der SM-Fraktion. Andererseits ergab die Analyse eine positive Korrelation ( $r=0,497$ ,  $p=0,005$ ) zwischen der PL-Fraktion und PE-Fraktion.

Bei den Patienten waren keine signifikanten Korrelationen zwischen ernährungsabhängigen und ernährungsunabhängigen Lipidfraktionen hinsichtlich der gesättigten Fettsäuren zu verzeichnen.

### 5.2.2 Einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA)

Gesunde Personen keine signifikanten Korrelationen der MUFA Werte zwischen ernährungsabhängigen und ernährungsunabhängigen Lipidfraktionen.

Bei Patienten hingegen korrelieren die einfach ungesättigten Fettsäuren der TAG-Fraktion mit denen der PE-Fraktion ( $r=0,581$ ,  $p=0,001$ ).

### 5.2.3 Mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA)

Bei Betrachtung der Gesamt-PUFA sind bei Kontrollprobanden signifikant positive Korrelationen zwischen der CE- und PE-Fraktion ( $r=0,418$ ,  $p=0,022$ ) sowie der PL- und PE-Fraktion ( $r=0,509$ ,  $p=0,004$ ) zu verzeichnen.

Patienten hingegen weisen keine signifikanten Korrelationen hinsichtlich der Gesamt-PUFA zwischen ernährungsabhängigen und ernährungsunabhängigen Lipidfraktionen auf.

Um zu detektieren, ob dieser Unterschied auf eine bestimmte Familie der PUFA (Omega-3-, Omega-6- oder Omega-9-Fettsäuren) zurückzuführen ist, wurden im Folgenden weitere Korrelationsanalysen dieser Subgruppen durchgeführt.

### 5.2.4 Omega-6-Fettsäuren (n6-FS)

Kontrollprobanden weisen bei Betrachtung der Omega-6-FS signifikant positive Korrelationen zwischen der CE- und PE-Fraktion ( $r=0,433$ ,  $p=0,017$ ) sowie zwischen der PL- und PE-Fraktion auf ( $r=0,579$ ,  $p=0,001$ ).

Dieser Zusammenhang ist bei den Patienten nicht nachweisbar. Es ergeben sich keine signifikanten Korrelationen zwischen den Omega-6-Summenwerten der Plasmalipidfraktionen und denen der Fraktionen der Erythrozytenmembran.

### 5.2.5 Omega-3-Fettsäuren (n3-FS)

Aufgrund der in der SM-Fraktion nur in sehr geringen Konzentrationen vorkommenden Omega-3-Fettsäuren war eine Korrelationsanalyse mit den Omega-3-Fettsäuren der Plasmalipidfraktionen nicht durchführbar.

Gesunde weisen signifikant positive Korrelationen zwischen TAG- und PE-Fraktion ( $r=0,530$ ,  $p=0,003$ ), CE- und PE-Fraktion ( $r=0,513$ ,  $p=0,004$ ) sowie der PL- und PE-Fraktion ( $r=0,574$ ,  $p=0,001$ ) auf.

Auch bei Patienten korrelieren die Omega-3-Fettsäuren zwischen TAG- und PE-Fraktion ( $r=0,442$ ,  $p=0,027$ ), CE- und PE-Fraktion ( $r=0,491$ ,  $p=0,009$ ) sowie PL- und PE-Fraktion ( $r=0,593$ ,  $p=0,001$ ) positiv signifikant.

**Zusammenfassend** lässt sich bei der Korrelationsanalyse der mehrfach ungesättigten Fettsäuren zwischen den ernährungsabhängigen Plasmalipidfraktionen und den eher ernährungsunabhängigen Lipidfraktionen der Erythrozytenmembran konstatieren, dass die festgestellten Zusammenhänge bei Betrachtung der Gesamt-PUFA auf die Omega-6-Fettsäuren zurückzuführen sind.

### 5.2.6 Transfettsäuren (TFA)

Bei Gesunden korrelieren die Transfettsäuren der TAG-Fraktion signifikant positiv mit denen der PE-Fraktion ( $r=0,490$ ,  $p=0,007$ ) sowie im Trend die der PL-Fraktion mit denen der PE-Fraktion ( $r=0,342$ ,  $p=0,059$ ).

Im Gegensatz dazu sind bei den Patienten keine Korrelationen nachweisbar.

Es ist festzustellen, dass die TFA der TAG u. PL-Fraktion (beide ernährungsabhängig) nur bei Gesunden mit der PE-Fraktion (ernährungsunabhängig) korrelieren, hier bei Patienten also eine Metabolisierungsdefizit vorliegen könnte.

## **6 Diskussion**

### **6.1 Hauptbefunde**

1. Bei Betrachtung der Fettsäureprofile der gemessenen Lipidfraktionen zeigten sich bei den Patienten in der akuten Erstmanifestation im Trend höhere Konzentrationen an Omega-3- und niedrigere Konzentrationen an Omega-6-PUFA, sodass Hypothese 1 angenommen werden kann.
2. Auch in der Sphingomyelinfraktion der Erythrozytenmembran zeigte sich bei Patienten eine signifikant erniedrigte Konzentration einer Omega-6-FS, der Arachidonsäure, womit Hypothese 2 angenommen werden kann.
3. Die Sphingomyelinfraktion zeigte hinsichtlich der PUFA keine Korrelation zu anderen Fraktionen, wodurch Hypothese 3 abgelehnt werden muss.
4. Hinsichtlich der Omega-3-PUFA zeigten sich bei Patienten und Kontrollen in den gemessenen Lipidfraktionen signifikant positive Korrelationen, welche bei den Omega-6-PUFA nur bei Gesunden vorhanden waren. Dies deutet auf ein Metabolisierungsdefizit von n6-FS bei Patienten hin und führt zur Ablehnung von Hypothese 3.

### **6.2 Diskussion der Hauptbefunde vor dem Hintergrund der aktuellen Forschungslage**

#### **6.2.1 PUFA-Alterationen bei Patienten mit Schizophrenie**

Bereits 1989 zeigte Horrobin Unterschiede in den inkorporierten PUFA der Phospholipide des Plasmas zwischen medizierten Patienten mit Schizophrenie und gesunden Kontrollprobanden. Die Patienten wiesen, übereinstimmend mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, signifikant niedrigere Konzentrationen an Omega-6-PUFA und signifikant höhere Konzentrationen an Omega-3-PUFA im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen auf (Horrobin et al., 1989).

Im Zuge dieser Entdeckung wurden verschiedenste humane Gewebe auf deren Fettsäureprofile untersucht, wobei sich ein großer Teil der Forschung auf die Membran der Erythrozyten konzentrierte, da deren Zusammensetzung der von Neuronen am ehesten ähnelt und sie risikoarm und einfach von den Probanden gewonnen werden können (Assies et al., 2001; Carlson, Carver, & House, 1986).

In einer Metaanalyse von Hoen et al., die 18 Studien verglich, in denen PUFA Konzentrationen in Erythrozytenmembranen von Patienten mit Schizophrenie im Vergleich zu Kontrollprobanden gemessen wurden, zeigten sich erniedrigte Konzentrationen der Omega-3-PUFA DPA und DHA sowie der Omega-6 PUFA LA und AA als konsistente Ergebnisse, wobei allerdings eine große

Diversität hinsichtlich der Ergebnisse bestand (Hoen et al., 2013). Anzumerken ist, dass DHA, LA und AA als essentielle Fettsäuren gelten.

In der vorliegenden Studie wurde bewusst das **Krankheitsstadium** als potentiell konfundierender Faktor für Veränderungen im Fettsäureprofil von Patienten mit Schizophrenie mit berücksichtigt. In der Literatur zeigte sich eine Tendenz zur Normalisierung der Alterationen im PUFA-Stoffwechsel nach antipsychotischer Medikation (McNamara et al., 2007; Sethom et al., 2010). Daher gilt die vorliegend untersuchte Gruppe der Neuroleptika-naïven ersterkrankten Patienten als besonders vielversprechendes Kollektiv, wenn pathogenetische Faktoren der Krankheitsentstehung ohne den Effekt der Antipsychotika aufgefunden und charakterisiert werden sollen. Studien anderer Arbeitsgruppen bei Neuroleptika-naïven ersterkrankten Patienten ergaben in der Erythrozytenmembran signifikant niedrigere Konzentrationen an essentiellen PUFA, vor allem der AA und DHA (Arvindakshan, Sitasawad, et al., 2003; Evans et al., 2003; Khan et al., 2002; Reddy, Keshavan, & Yao, 2004).

An diesem Punkt geht die vorliegende Studie einen Schritt weiter, indem hinsichtlich des **Untersuchungsmaterials** der Erythrozytenmembran noch weiter differenziert wird. In der an PUFA und AA reichen Phosphoethanolamin (PE)-Fraktion zeigten sich nur bezogen auf die C22:5n6 eine bei Patienten verminderte (bei C20:2n6 gesteigerte) Konzentration. Hingegen war in der deutlich weniger (<20%) mit PUFA ausgestatteten Sphingomyelin-(SM)-fraktion die AA bei Patienten signifikant vermindert (andere Omega-6-PUFA im Trend auch vermindert). Von der Analyse der SM-Fraktion, die in der weißen Substanz entscheidend am Aufbau der Myelinscheiden beteiligt ist, erhofften wir uns einen tieferen Einblick in strukturelle Abnormalitäten des Gehirns schizophrener Patienten. Auf die in dieser Fraktion der Erythrozyten-Membran in verminderter Konzentration vorgefundene AA und mögliche Implikationen soll in Kapitel 6.2.2 vertiefend eingegangen werden. Zusätzlich fand sich in der SM-Fraktion auch eine Verminderung der trans-FS bei Patienten, ein ebenfalls nicht vorbeschriebener Befund.

Ein weiterer wichtiger Faktor bei der Interpretation von Fettsäureprofilen von Patienten mit Schizophrenie scheint die **vorherrschende Psychopathologie** der Patienten zu sein. Glen et al. zeigten, dass niedrige Konzentrationen an PUFA in Erythrozytenmembranen eng mit dem Ausprägungsgrad der Negativsymptomatik korrelieren. Die Fettsäureprofile von Patienten mit vorherrschender Positivsymptomatik unterschieden sich nicht signifikant von denen gesunder Kontrollprobanden (Glen et al., 1994). Eine Assoziation zwischen PUFA-Profil und Ausprägung der Psychopathologie beobachteten auch Bentsen et al., die ihre Patienten in „low-PUFA“ und „high-PUFA“ Gruppen einteilten und sukzessive auch signifikante Gruppenunterschiede in der Symptomatik aufdecken konnten. Die Autoren äußerten die Vermutung, dass die PUFA-Konzentration in Erythrozytenmembranen Ausdruck verschiedener biologischer Endophänotypen der schizophrenen Erkrankungen sein könnte (Bentsen, Solberg, Refsum, & Bohmer, 2012; Bentsen et al., 2011). Allerdings bleibt die letztgenannte Studie eine weitere Differenzierung der PUFA, insbesondere eine

weitere Gliederung in Omega-3- und Omega-6-FS, schuldig. In der vorliegenden Auswertung stand die Klärung der Ernährungsabhängigkeit von PUFA-Abweichungen im Vordergrund. Daher wurde die ebenfalls erfasste Psychopathologie als potentieller Co-Faktor hier nicht systematisch untersucht. Ob zwischen den hier aufgedeckten Abweichungen im PUFA-Profil und der Ausprägung der Psychopathologie bzw. diversen Symptom-Clustern ein Zusammenhang besteht, wird eine diesbezüglich vertiefende Auswertung klären. Selbiges trifft auch für die Rolle der ebenfalls erfassten PLA<sub>2</sub>-Aktivität zu.

Ein wichtiger Aspekt für die Interpretation der vorgelegten peripheren Befunde aus dem Blut ist die **Aussagekraft bezogen auf die sich tatsächlich im Gehirn schizophren Erkrankter abspielende Pathologie**. Hier kann auf Befunde mittels <sup>31</sup>Phosphor-Magnetresonanzspektroskopie (<sup>31</sup>P-MRS) verwiesen werden. Um Veränderungen im Phospholipidstoffwechsel des Gehirns *in vivo* feststellen zu können, untersuchten Pettegrew et al. in ihrer wegweisenden ersten Studie die Region des Frontallappens schizophrener Patienten. Die hierbei erfassten Phosphomono- und diester (PME und PDE) reflektieren gerade auch den Stoffwechsel der Phosphoethanolamin-Fraktion der Membranphospholipide, welche in der vorliegenden Studie in Erythrozytenmembranen untersucht wurde und welche zu ca. 45% PUFA (u.a. hohe Konzentrationen an AA) enthält. Pettegrew et al. fanden bei unbehandelten ersterkrankten schizophrenen Patienten eine signifikante Verringerung der Phosphomonoester (PME) sowie eine signifikante Erhöhung der Phosphodiester (PDE) (Pettegrew et al., 1991). Dieser Befund, welcher in darauffolgenden Studien mehrerer Arbeitsgruppen immer wieder reproduziert werden konnte, wurde als Hinweis auf einen lokal gesteigerten Abbau von Membranphospholipiden bei gleichzeitig verminderter bzw. dekompenzierter regenerativer Syntheseleistung gewertet. Der konkrete Bezug zu Membran-PUFA-Veränderungen in peripheren Geweben wurde von Yao und Mitarbeitern hinterfragt. Yao et al. zeigen im Rahmen einer methodisch kombinierten Untersuchung eine Assoziation zwischen verminderten PUFA-Konzentrationen in Erythrozytenmembranen und verminderten PME (d.h. Membransynthesebausteinen) bzw. gesteigerten PDE (Abbaumetabolite von Membranphospholipiden) im ZNS (J. Yao, Stanley, Reddy, Keshavan, & Pettegrew, 2002). Dies legt eine gewisse Aussagekraft auch der hier vorgelegten Befunde in Erythrozytenmembranen für hirnbetogene Veränderungen nahe.

In ähnlicher Weise zeigten andere Arbeitsgruppen verminderte PUFA-Konzentrationen bei der Untersuchung von post mortem Hirngewebe (Horrobin, Manku, Hillman, Iain, & Glen, 1991; J. K. Yao, Leonard, & Reddy, 2000) sowie in Fibroblasten der Haut (Mahadik et al., 1996) und auch eine verminderte Aufnahme von AA in Thrombozyten (Demisch, Heinz, Gerbaldo, & Kirsten, 1992) bei Patienten mit Schizophrenie. **Dies deutet auf eine den Stoffwechsel von Phospholipiden und PUFA (v.a. AA) generell betreffende Regulationsstörung zumindest bei einer Gruppe schizophrener Patienten hin.**



### 6.2.2 Mögliche Ursachen und Implikationen des Arachidonsäure-Defizits

In vielen Studien konnten Alterationen im Stoffwechsel der Phospholipide und der mit ihnen veresterten PUFA, hauptsächlich der AA und DHA, bei Patienten mit Schizophrenie festgestellt werden (Hoen et al., 2013). Da auch das in dieser Arbeit untersuchte Patientenkollektiv signifikant niedrigere Konzentrationen der AA in der Sphingomyelin-Fraktion sowie im Trend in den anderen Lipidfraktionen aufwies, soll im Folgenden genauer auf mögliche pathogenetische Implikationen dieses Defizits eingegangen werden.

Zum einen können aus der AA mittels Cyclooxygenase oder Lipoxygenase proinflammatorische Zytokine gebildet werden (siehe Abb.8).

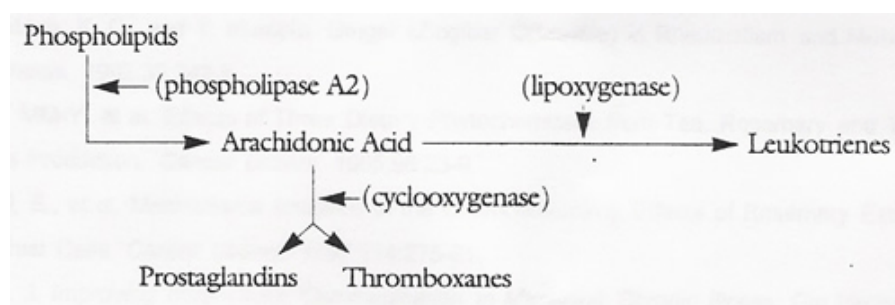


Abbildung 8: Der Arachidonsäurestoffwechsel, Quelle: <http://www.andersenchiro.com/images/Arachidonic-Acid-Cascade-Pathway.gif>

Serie-2-Prostaglandine zum Beispiel, von denen bis heute mindestens 16 Formen bekannt sind, werden zellspezifisch gebildet und erfüllen unterschiedlichste entzündungsfördernde Funktionen (Calder, 2001). Ein Zusammenhang zur „mild encephalitis hypothesis“ (Bechter, 2013) und zur Beobachtung eines TH1-Th2-Shifts der Immunabwehr (Muller, 2004) bei psychotischen Erkrankungen könnte hier vermutet werden. Klinisch können Beeinträchtigungen der Entzündungskaskade, insbesondere der Prostaglandin-vermittelten Funktionen, über den Niacin-Hauttest erfasst werden. Physiologischerweise führt oral bzw. dermal appliziertes Niacin (Nicotinsäure, Vitamin B3) über die Bindung an einen G-Protein gekoppelten Rezeptor zur Aktivierung einer intradermalen PLA<sub>2</sub> und somit zu einer Freisetzung von AA aus der Zellmembran. Aus dieser werden über die Cyclooxygenase vorwiegend vasodilatatorisch wirkende Prostaglandine (vor allem PGE<sub>2</sub> und PGD<sub>2</sub>) gebildet und bewirken eine Hautrötung (Flush). Studien konnten wiederholt nachweisen, dass schizophrene erkrankte, insbesondere medikamentennaïve first-episode, Patienten eine deutlich geringere bzw. ausbleibende Flushreaktion entwickeln (Messamore, Hoffman, & Yao, 2010; S. Smesny, Riemann, Riehemann, Bellemann, & Sauer, 2001) und dies umso ausgeprägter ist, je niedriger die AA-Konzentration in Plasma und Erythrozytenmembranen ist (Glen et al., 1996). Die Niacin-Sensitivität wurde daher als klinischer Marker für Störungen in der AA-Verfügbarkeit und Eicosanoid-Kaskade herangezogen und hinsichtlich ihrer Aussagekraft in Bezug auf Endophänotypen psychotischer Erkrankungen intensiv untersucht. Diese Untersuchungen zielen

darauf ab, Subgruppen von psychotischen Patienten anhand eines klinisch gut zugänglichen biologischen Markers zu definieren und speziellen Therapieoptionen zuführen zu können, z.B. der Substitution von Omega-3-Fettsäuren (siehe im Folgenden).

In Glycerophospholipiden wird AA u.a. durch die Phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) an der sn2-Position abgespalten, so dass hinsichtlich der Ursache der verminderten AA-Konzentration ein Zusammenhang zwischen AA-Defizit und PLA<sub>2</sub>-Funktionsstörung vermutet wurde. Im post mortem Hirngewebe des frontalen Kortex schizophrener Patienten fanden sich Konzentrationen der Enzymproteine und die mRNA der AA-verstoffwechselnden Enzyme COX-2, cPLA<sub>2</sub> und sPLA<sub>2</sub> erhöht (Rao, Kim, Harry, Rapoport, & Reese, 2013). Im Gegensatz dazu wird die Arachidonsäure beim Abbau des Sphingomyelin nicht durch PLA<sub>2</sub>-Enzyme sondern durch Sphingomyelinasen und Ceramidasen abgebaut. **Prinzipiell wäre also zusätzlich eine Funktionsstörung der genannten Enzyme (Sphingomyelinasen und Ceramidasen) als Ursache der verminderten AA-Konzentration denkbar und bedarf weiterer Untersuchung.**

Untersuchungen ergaben, dass auch die AA selbst eine Vielzahl neurobiologischer Prozesse beeinflusst. So wurde eine Wirkung auf die präsynaptische Inhibition durch K<sup>+</sup>-Kanäle (Piomelli, Shapiro, Feinmark, & Schwartz, 1987), eine Aktivierung der Proteinkinase C (Naor, Shearman, Kishimoto, & Nishizuka, 1988) sowie eine Modulation der Langzeit-Potenzierung (eng: long-term potentiation, LTP) im Rahmen der synaptischen Plastizität (Williams, Errington, Lynch, & Bliss, 1989) beschrieben. Über die Aktivierung der Proteinkinase C kommt es zu einer Phosphorylierung des GAP-35 (growth-associated-protein-35), welches einen großen Einfluss auf das Dendritenwachstum und die Synaptogenese (Benowitz & Routtenberg, 1997) hat und bei Patienten mit Schizophrenie erhöht gefunden wurde (Perrone-Bizzozero et al., 1996; Sower, Bird, & Perrone-Bizzozero, 1995). **Vermindertes Vorhandensein von AA könnte mit diesem stimulierenden bzw. modulierenden Pathway verbunden sein und so Hirnwachstum- bzw. -differenzierung und neuronale Plastizität beeinflussen. Im Zusammenhang mit dem Vulnerabilitäts-Stress-Modell (siehe Einleitung S. 11) psychotischer Erkrankungen wäre dies ein neuer und angesichts der Behandelbarkeit durch PUFA-Substitution (siehe nachfolgend) wichtiger Ansatz der Frühintervention bzw. indizierten Prävention.**

Ein erhöhter Umsatz der AA stellt einen wichtigen Einflussfaktor auf Neurotoxizität (Taylor, Jones, Kubota, & Pocock, 2005), Apoptose (Fang, Chang, Wang, Su, & Wu, 2008) und synaptische Integrität dar (Rao et al., 2013) und wurde daher auch bei neurodegenerativen Erkrankungen untersucht. Für die Alzheimer Demenz, die HIV-assoziierte Demenz sowie die vaskuläre Demenz konnte eine Assoziation zwischen erhöhter Expression AA-verstoffwechselnder Enzyme und verminderten kognitiven Fähigkeiten gezeigt werden (Sun et al., 2004; Yagami, 2006). Da SM das in der weißen Substanz am häufigsten vorkommende Phosphosphingolipid ist, könnte verminderte AA in dieser Fraktion auch Teil der neurodegenerativen (exzitotoxischen) Pathologie akut psychotischer Erkrankungsphasen sein. Dies wäre – wie in der untersuchten Population vorliegend – gerade mit

Beginn der akut psychotischen Erstmanifestation zu vermuten und würde dann auch mit kognitiven Funktionsstörungen in Zusammenhang stehen können. Immerhin konnte durch die additive Gabe von Celecoxib (einem selektiven COX-2 Inhibitor) zu Neuroleptika akut psychotische Symptomatik vermindert werden (Muller, Myint, Krause, Weidinger, & Schwarz, 2013; Nitta et al., 2013). Allerdings würde dies teilweise im Gegensatz zu der vorbeschriebenen Assoziation von AA-Defizit und Negativsymptomen stehen, die zu Beginn der Akutmanifestation zwar bereits vorhanden, aber oft noch weniger hervortretend ausgeprägt sind als die Positivsymptome. Hier wird die noch ausstehende Auswertung zur Psychopathologie weitere Ergebnisse erbringen. **Da in der vorliegenden Untersuchung keine neuropsychologischen Untersuchungen (z.B. von Arbeitsgedächtnis, semantischen Funktionen etc.) durchgeführt wurden, kann dem Zusammenhang zwischen AA-Defizit und kognitiven Funktionseinschränkungen nicht konkreter nachgegangen werden.** Hier bleibt der Verweis auf weiterführende Untersuchungen.

Im Zusammenhang mit der ersten Akutmanifestation von psychotischen Erkrankungen ist das dopaminerge Regulationsdefizit (s.a. Dopaminhypothese, S 7.) von besonderem Interesse. Tatsächlich konnte gezeigt werden, dass AA die Freisetzung von Dopamin aus Vesikeln moduliert (Davidson, Kurtstjens, Patton, & Cantrill, 1988). Anders herum wird aber durch die Aktivierung von DA<sub>2</sub>-Rezeptoren auch vermehrt AA mittels PLA<sub>2</sub> freigesetzt (Vial & Piomelli, 1995). **Es scheint also einen Zusammenhang zwischen AA-Verfügbarkeit, PLA<sub>2</sub>-Aktivität und dopaminerger Aktivität zu geben.** Untersuchungen an post mortem Hirngewebe schizophrener Patienten sind rar, bieten aber Anhaltspunkte in diese Richtung. Einerseits fanden Yao et al. erniedrigte PUFA-Konzentrationen, vorrangig der AA und deren Vorläufer, andererseits zeigten Ross et al. eine Aktivitätssteigerung der iPLA<sub>2</sub> im Hirngewebe verstorbener Patienten (Ross et al., 1999; J. K. Yao et al., 2000). Erste tierexperimentelle Arbeiten an Ratten konnten außerdem zeigen, dass intranigral injizierte PLA<sub>2</sub> zu einer verminderten Dopaminfreisetzung führt (Cadet, Hu, & Jackson-Lewis, 1989). Durch intracerebroventrikuläre Injektion von PLA<sub>2</sub> in Rattengehirne wurde die zuvor durch Apomorphin (ein Dopaminrezeptoragonist) stimulierte Motorik signifikant vermindert. Dies lässt auf antagonisierende/inhibitorische Eigenschaften am postsynaptischen Dopaminrezeptor schließen (Gattaz & Brunner, 1996). Wenn zytosolische PLA<sub>2</sub>-Aktivität im Kontext dopaminerger Enthemmung (Hyperexzitabilität) in ihrer Aktivität gesteigert ist (z.B. reaktiv od. kompensatorisch), so wäre ein gesteigerter Abbau von AA aus Membranphospholipiden (z.B. Phosphoethanolamin) eine logische Schlussfolgerung. In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch keine verminderte Konzentration von Omega-6-PUFA, insbesondere von AA, in der PE-Fraktion der Erythrozytenmembran gefunden. Es wäre möglich, dass sich die vermutete intrazerebrale Pathologie, d.h. der Zusammenhang zwischen dopaminerger Überaktivierung im limbischen System – gesteigerter PLA<sub>2</sub> Aktivität – erhöhtem Umsatz der AA – und sukzessive proinflammatorischer Aktivierung – in Parametern der Körperperipherie, d.h. Blutplasma und –zellwänden, in dieser Population nicht darstellen lässt. Auch hier wären die noch ausstehenden PLA<sub>2</sub>-Befunde zur Interpretation hilfreich.

Ein weiteres Transmittersystem, welches gleichermaßen mit der Psychoserecherche wie mit dem PUFA-Stoffwechsel (v.a. der AA) assoziiert ist, ist das **Endocannabinoidsystem**. Die Verbindung dieses Systems zum dopaminergen und glutamatergen System wird bislang als Ursache der Psychosebegünstigenden Wirkung des Tetrahydrocannabinols (THC, psychotroper Wirkstoff von Cannabis) vermutet, d.h. die Senkung der Schwelle für das Auftreten von Wahnvorstellungen, Halluzinationen, Gedächtnis- und Aufmerksamkeitsstörungen sowie motorischen Störungen (Aboud & Martin, 1992; Skosnik & Yao, 2003). THC bindet aufgrund seiner strukturehemischen Ähnlichkeiten agonistisch an Cannabinoid-Rezeptoren, die eigentlich für Endocannabinoide, z.B. Anandamid, bestimmt sind. Anandamid wird endogen aus AA und Ethanolamin synthetisiert (Sugiura, Kobayashi, Oka, & Waku, 2002) und unterliegt einer konzentrationsabhängigen Selbstregulation (Someya, Horie, & Murayama, 2002). Im Falle verminderter AA-Verfügbarkeit könnte es zu einem Mangel an Endocannabinoiden (z.B. Anandamid) und damit der erhöhten Anfälligkeit für die psychosebegünstigenden Effekte von externen Cannabinoiden kommen. **Andererseits könnte verminderte AA aber auch Folge gesteigerter Endocannabinoidsynthese sein.** Beides könnte wiederum Auswirkungen auf die dopaminerge bzw. glutamaterge Aktivität haben. Einige Studien erbrachten Hinweise für die letztgenannte Vermutung. So fanden sich bei Patienten mit Schizophrenie erhöhte Spiegel an Anandamid im Liquor cerebrospinalis (Giuffrida et al., 2004; Leweke, Giuffrida, Wurster, Emrich, & Piomelli, 1999), eine erhöhte Dichte des Cannabinoidrezeptors 1 (CB1) im dorsolateralen präfrontalen Kortex (Dean, Sundram, Bradbury, Scarr, & Copolov, 2001) sowie eine genetische Assoziation von CB1-Rezeptor-Genen mit Schizophrenie (Leroy et al., 2001; Ujike et al., 2002). In einer kürzlich durchgeführten Metaanalyse von Ferretjans et al. konnte die vermutete Assoziation von Endocannabinoidsystem und schizophrenen Psychosen erhärtet werden, die Einzelergebnisse wiesen jedoch noch Inkonsistenzen auf (Ferretjans, Moreira, Teixeira, & Salgado, 2012). Da sich durch die Entwicklung von Antagonisten am CB1 Rezeptor eventuell ein neuer medikamentöser Therapieansatz ergibt, sollten weitere Studien auch bezüglich etwaiger Auswirkungen auf die AA-Homöostase folgen.

Durch die Einbindung der AA in die Regulation von Hirnentwicklung- und Differenzierung, dopaminerger/glutamaterger Neurotransmission, Endocannabinoidsystem, inflammatorischen und unspezifischen Immunprozessen und Neurodegeneration sowie die sich hieraus ergebenden Therapieansätze (antiinflammatorisch, PUFA-substituierend, Cannabinoid-modulierend) sind die hier aufgedeckten verminderten Konzentrationen in verschiedenen Fraktionen (insbesondere der SM-Fraktion) bedeutsam und in Bezug auf weiterführende Recherche vielversprechend.

### 6.2.3 PUFA-Defizite und der Einflussfaktor Ernährung

Essentielle Fettsäuren, insbesondere deren Vorläufer Linolsäure und Linolensäure, müssen von Säugetieren mit der Nahrung aufgenommen werden. Folglich hat die Art und Zusammensetzung der Nahrung einen Einfluss auf das Fettsäureprofil von Membranen (Dougherty, Galli, Ferro-Luzzi, & Iacono, 1987; Stanford, King, & Kristal, 1991). So legen epidemiologische Untersuchungen nahe, dass in Ländern mit hohem PUFA-Gehalt in der Nahrung das Outcome für Schizophrenie günstiger sein könnte (Christensen & Christensen, 1988). Andererseits zeigten sich in verschiedenen Kulturen mit den unterschiedlichsten Nahrungsgewohnheiten nur geringe Unterschiede der PUFA-Konzentrationen in der Erythrozytenmembran (Skosnik & Yao, 2003).

Bei alimentär nicht ausreichend aufgenommenen Omega-3- und Omega-6-PUFA wäre ein Anstieg der endogen synthetisierbaren Omega-9-FS zu erwarten. Die ist sowohl bei den in dieser Arbeit untersuchten Patienten wie auch in von anderen Arbeitsgruppen untersuchten Kohorten nicht feststellbar (Horrobin et al., 1989; Kaiya, Horrobin, Manku, & Fisher, 1991). Um den Einflussfaktor Ernährung auf PUFA-Alterationen schizophrener Patienten zu minimieren, führten Yao et. al eine Studie durch, in der die Nahrungsaufnahme der Patienten standardisiert und kontrolliert wurde. Auch in dieser Studie ließen sich Abweichungen im PUFA-Stoffwechsel der Patienten mit Schizophrenie feststellen, mit signifikant niedriger Konzentrationen der Linolsäure und AA (J. K. Yao, van Kammen, & Welker, 1994).

Die in dieser Arbeit untersuchten Probanden wurden hinsichtlich ihrer Ernährungsgewohnheiten nicht näher befragt, sodass der Einflussfaktor Ernährung nicht durch anamnestiche Angaben charakterisiert werden kann. Dies erwies sich in Voruntersuchungen überdies als methodisch aufwändig und aufgrund der Subjektivität der Angaben dann doch wenig aussagekräftig. Dafür wurden hier die Lipidfraktionen untersucht, die unmittelbar Auskunft über die Ernährung im Zeitraum vor der Untersuchung geben. In den Ergebnissen der stark ernährungsabhängigen TAG-Fraktion wiesen die Patienten signifikant höhere Konzentrationen von LA, DPA, DHA, n6-PUFA und Gesamt-PUFA auf. TAG werden hauptsächlich mittels Chylomikronen und VLDL im Plasma transportiert und von verschiedenen Geweben zur Energiegewinnung und –speicherung sowie für die Biosynthese verschiedenster Zellbestandteile aufgenommen. Bei Betrachtung der Fettsäureprofile der CE und PL des Plasmas von Patienten mit schizophrener Erstmanifestation, welche eher die Fettaufnahme der vergangenen Wochen bis Monate widerspiegelt, zeigt sich übereinstimmend mit der TAG Fraktion eine erhöhte Konzentration der DHA im Vergleich mit Kontrollprobanden. DHA wird nur zu einem geringen Prozentsatz vom Menschen aus der essentiellen ALA selbst synthetisiert, wobei die Konversionsraten in Studien zwischen < 1% bis ca. 5% reichen (Anderson & Ma, 2009; Brenna, Salem, Sinclair, Cunnane, & Issfai, 2009). Ein Grund für die DHA Erhöhung bei Patienten könnte somit ein vermehrter Verzehr von fettreichem Seefisch sein. Andererseits könnte auch die normalerweise enzymatisch (delta-6-Desaturase u.a.) aufrechterhaltene Homöostase zwischen FS der Omega-3- und Omega-6-Familie zugunsten der Omega-3-FS alteriert sein. Bei Betrachtung der PE- u. SM-Fraktion der Erythrozytenmembran, welche von den in dieser Arbeit gemessenen Lipidfraktionen

am wenigsten ernährungsabhängig sind, fällt auf, dass die Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen geringer sind. In der PE-Fraktion ist bei Patienten die DPA (Omega-3-FS) signifikant erhöht, in der SM Fraktion die AA (Omega-6-FS) signifikant niedriger als bei Kontrollprobanden. Im Trend weisen die Patienten im Gegensatz zu den Lipidfraktionen im Plasma geringere Summenwerte für Omega-6-Fettsäuren auf.

Bei Betrachtung der Transfettsäuren ergab sich auf Summenniveau eine signifikant niedrigere Konzentration bei schizophrenen Patienten in der Sphingomyelin-Fraktion. Erhöhte Konzentrationen von Transfettsäuren, welche nicht endogen synthetisiert werden können, sprechen im Allgemeinen für eine ungesunde Ernährung und erhöhen das Risiko für kardiovaskuläre und metabolische Erkrankungen (s. Kapitel 3.2.6). Da die Veränderungen lediglich in der SM-Fraktion der Erythrozytenmembran und nicht in den Lipidfraktionen des Plasmas nachweisbar sind, spricht dies vorbehaltlich des bereits angesprochenen geringen Nachweislevels für eine verminderte Aufnahme der Transfettsäuren in den letzten Wochen bis Monaten vor der Blutentnahme bei den Patienten.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass bei Patienten mit schizophrener Erstmanifestation ein veränderter Lipidmetabolismus vorhanden ist. Mit der Nahrung werden möglicherweise vermehrt PUFA, sowohl Omega-3-Fettsäuren (DPA, DHA) als auch Omega-6-Fettsäuren (LA) in Summe aufgenommen oder bei gleicher Aufnahme vermehrt resorbiert. Umso „ernährungsunabhängiger“ die untersuchte Lipidfraktion ist, desto geringer werden die Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen, beziehungsweise kehren sich sogar um (im Trend verminderte Omega-6-FS bei Patienten in der PE-Fraktion). Es scheint somit ein erhöhter „Verbrauch“ von PUFA bei schizophrenen Patienten, hochwahrscheinlich auch in Zusammenhang mit den im ZNS zur Erkrankung führenden Pathomechanismen (siehe Kapitel 6.2.1. S.46), zu bestehen.

#### 6.2.4 Korrelationsbefunde unterschiedlicher Fett-Fraktionen

Durch die Korrelationsanalyse einiger Summenwerte bestimmter Fettsäurefamilien getrennt nach Patienten und Kontrollen sollte der Versuch unternommen werden, mögliche Unterschiede in der Verwertung und Verstoffwechselung der Lipide zu detektieren. Dabei sollte vor allem der Frage nachgegangen werden, ob Korrelationen zwischen ernährungsabhängigen und –unabhängigen Lipidfraktionen bestehen, durch die Erkrankung verloren gehen oder erst durch sie entstehen.

**Gesättigte Fettsäuren:** Bei der ernährungsabhängigen PL-Fraktion sind SFA nur bei Gesunden mit den SFA der ernährungsunabhängigen PE-Fraktion der Erythrozytenmembran positiv assoziiert, was auf ein internes Metabolisierungsdefizit bei Patienten hindeutet. Die inverse Korrelation der SFA zwischen TAG- und SM Fraktion bei Gesunden lässt vermuten, dass im Normalfall für die Biosynthese der in der SM Fraktion vorkommenden SFA die tägliche Menge an mit der Nahrung aufgenommenen SFA keine Rolle spielt bzw. sogar eine vermehrte Aufnahme mit der Nahrung mit niedrigeren Werten in der SM-Fraktion einhergeht. Dies unterstützt unsere a priori Annahme, dass die

SM-Fraktion eine ernährungsunabhängige metabolische Situation abbildet. Man kann auch spekulieren, dass bei Gesunden die Metabolisierung der SFA z.B. zu Nervensäure, welche in hohem Maße in der SM-Fraktion vorkommt und am Aufbau der Myelinscheiden beteiligt ist bzw. bei der ein Mangel zum Beispiel mit der Multiplen Sklerose assoziiert sein soll, physiologisch aktiver ist. Allerdings zeigte sich beim Gruppenvergleich in der hier untersuchten Population kein signifikanter Unterschied in den Nervensäurekonzentrationen.

**Einfach ungesättigte Fettsäuren:** Die nur bei den Patienten vorhandene positive Korrelation zwischen den MUFA der ernährungsabhängigen TAG-Fraktion und der ernährungsunabhängigen PE-Fraktion könnte auf eine kompensatorisch angeregte Verstoffwechselung von MUFA hindeuten.

**Mehrfach ungesättigte Fettsäuren:** Bei den für schizophrene Erkrankungen pathophysiologisch bedeutsamen mehrfach ungesättigten Fettsäuren (siehe Kap. 3.1.6.3 – Membranlipidhypothese) weisen gesunde Personen signifikant positive Korrelationen zwischen der CE- und PE-Fraktion sowie der PL- und PE-Fraktion auf. Nehmen also Gesunde viele mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit der Nahrung auf, geht dies auch mit erhöhten Konzentrationen der PUFA in der PE-Fraktion der Erythrozytenmembranen einher. Da dieser physiologische Zusammenhang bei den Patienten nicht vorhanden ist, wäre dies als Anhaltspunkt für eine Pathologie in diesem Metabolisierungsweg zu werten. Im Folgenden wurden die mehrfach ungesättigten Fettsäuren daher in die Subgruppen der Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren aufgetrennt und erneut eine Korrelationsanalyse durchgeführt, um zu prüfen, ob das vermutete Regulationsdefizit auf eine der Fettsäurefamilien zurückzuführen ist.

Die Ergebnisse zeigen, dass oben genannte Unterschiede bei der Korrelationsanalyse der PUFA auf Veränderungen im Metabolismus der Omega-6-Fettsäuren begründet sind. Hinsichtlich der Omega-3-Fettsäuren ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Korrelationsanalyse zwischen Patienten und Kontrollen.

Auffällig ist, dass die SM-Fraktion keinerlei Korrelationen mit anderen Lipidfraktionen bei Betrachtung der PUFA aufweist, also tatsächlich weitgehend ernährungsunabhängig zu sein scheint, bzw. die mit der Nahrung aufgenommenen Fettsäuren kaum einen Einfluss auf das Fettsäureprofil der SM Fraktion haben.

**Transfettsäuren:** Bei den ernährungsabhängigen Fraktionen TAG (und PL Trend) sind TFA nur bei Gesunden mit den TFA der ernährungsunabhängigen PE-Fraktion der Erythrozytenmembran positiv assoziiert, was auf ein internes Metabolisierungsdefizit bei Patienten hindeutet.

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse untermauern die Beobachtungen aus dem Gruppenvergleich, dass Patienten insbesondere bei den Omega-6-Fettsäuren einen veränderten Lipidmetabolismus aufweisen.

### 6.2.6 Ernährung und therapeutische Aspekte

Die in dieser Arbeit gezeigte unmittelbare Ernährungsabhängigkeit der Verfügbarkeit essentieller PUFA in den biologischen Systemen der Zellmembran und der auch hier bestätigte Nachweis von PUFA-Defiziten bei schizophrenen Erkrankten führten zu der Überlegung, mit der Supplementation von überwiegend Omega-3-FS das Auftreten von Psychosen, die Schwere der Symptomatik bzw. das Outcome zu beeinflussen. Diese Idee geht davon aus, dass das **Regulationsdefizit im Phospholipid- und PUFA-Stoffwechsel über die Ernährung prinzipiell beeinflussbar** ist, möglicherweise sogar auch dadurch **mit bedingt** wird. Mellor et al. protokollierten in einer Pilotstudie die tägliche Fettaufnahme von chronisch schizophrenen Patienten und fanden heraus, dass Patienten mit höherer Aufnahme von Omega-3-FS signifikant niedrigere Werte für Positive and Negative Symptom Scale (PANSS) aufwiesen. Im Anschluss supplementierte die Arbeitsgruppe bei chronisch Schizophrenen zusätzlich zur antipsychotischen Therapie über 6 Wochen 10g Fischöl pro Tag, welches zu signifikant niedrigeren Werten in der PANSS führte (Mellor, Laugharne, & Peet, 1995). Seitdem wurden viele Studien über die Wirksamkeit der Nahrungsergänzung mit essentiellen PUFA (v.a. EPA stellte sich als vielversprechende Fettsäure heraus) bei verschiedenen Krankheitsstadien und in diversen Kombinationen mit Neuroleptika bei schizophrenen Patienten durchgeführt. Arvindakshan et al. supplementierten beispielsweise ein EPA/DHA (180:120mg) Präparat mit zusätzlichen Antioxidantien (Vit. E und C) über 4 Monate bei chronisch schizophrenen Patienten. Eine Steigerung der PUFA Konzentrationen in Erythrozyten im Vergleich zur Messung vor der Supplementation und eine signifikante Verbesserung der psychopathologischen Scores (SAPS, SANS) konnte durch diese Supplementation erreicht werden (Arvindakshan, Ghate, Ranjekar, Evans, & Mahadik, 2003). Im Gegensatz dazu fanden Fenton et al. keine Verbesserung der klinischen Symptomatik nach EPA-Substitution von 3g/d über 16 Wochen im Vergleich zu Placebo (Fenton, Dickerson, Boronow, Hibbeln, & Knable, 2001). Eine Metaanalyse konnte bei manifest schizophrenen Erkrankten keine Überlegenheit der EPA-Substitution im Vergleich zu Placebo feststellen (Fusar-Poli & Berger, 2012). Amminger et al. waren die erste Arbeitsgruppe, die Omega-3-FS bereits im Risikostadium für psychotische Erkrankungen einsetzten. Im Rahmen eines RCT verabreichte die Arbeitsgruppe über 12 Wochen 1,2g/d Omega-3-PUFA (EPA/DHA) bzw. Placebo. In der Verumgruppe entwickelten 2 von 41 Patienten (4,9%) und in der Placebogruppe 11 von 40 Patienten (27,5%) eine Psychose. Dieses Ergebnis war ein erster Hinweis für Risiko-modulierende Eigenschaften von Omega-3-PUFA und stellte einen vielversprechenden Präventionsansatz dar (Amminger et al., 2010), der aktuell in multizentrischen Studien unter Beteiligung der Jenaer Arbeitsgruppe weiter beforscht wird. Interessanterweise führt die Gabe von Omega-3-PUFA an Risikoprobanden auch zu einer Reduktion der zuvor erhöht gemessenen PLA<sub>2</sub>-Aktivität (Smesny et al., 2014). Trotz dieser Befunde kann eine abschließende Empfehlung, ob und wie eine Supplementation mit Omega-3-PUFA bei Schizophrenen erfolgen sollte, zu diesem Zeitpunkt noch nicht gegeben werden. Eine differenziertere Studiendurchführung hinsichtlich Krankheitsphase, Begleitmedikation und vorherrschender Symptomatik scheint sinnvoll zu sein, um den wirkungsvollsten Zeitpunkt einer Supplementation und deren beste Zusammensetzung zu erarbeiten.



Aus **neurobiologischer Sicht** könnte den vermuteten neuroprotektiven Eigenschaften der **EPA-Substitution** eine Stimulierung der Expression der am Aufbau von Myelin beteiligten Proteine zugrunde liegen. Dieser Einfluss der EPA konnte zumindest in Tierstudien nachgewiesen werden (Salvati et al., 2008) und wäre – gerade auch unter Berücksichtigung der eigenen Ergebnisse in der SM-Fraktion von Erythrozytenmembranen – ein weiteres Argument für die Gabe in der Risikophase psychotischer Erkrankungen. Außerdem kann u.a. durch die Gabe von EPA eine Hypertriglyceridämie gemindert werden, welche häufig als Nebenwirkung der Einnahme von atypischen Neuroleptika auftritt. Dies wäre (unabhängig von einer eigenen antipsychotischen Wirksamkeit) ein Argument für den zusätzlichen Einsatz von EPA bei chronisch erkrankten, medizierten Patienten mit psychotischen Störungen.

### 6.3 Methodenkritik

Im Folgenden soll auf die Limitationen der vorliegenden Studie eingegangen werden.

Eine methodische Schwäche liegt in der gemessen an der Anzahl analysierter biologischer Parameter geringen Stichprobengröße. Dies ist durch die extrem aufwändige Rekrutierung bedingt, welche durch das kurze Zeitfenster zwischen Diagnosestellung und Beginn der medikamentösen Therapie entsteht. Der Studieneinschluss eines Patienten mit akuter Erstmanifestation vor Beginn der Antipsychotikagabe ist daher selten, der Rekrutierungszeitraum umfasste ca. 2 Jahre. Die Daten lassen sich auch nicht ohne weiteres auf die Normalbevölkerung übertragen, da vor allem Patienten und Kontrollprobanden untersucht wurden, die im Schnitt 25 Jahre alt waren. Die untersuchten Gruppen wurden hinsichtlich Alter und Geschlecht parallelisiert, jedoch blieben weitere Einflussfaktoren wie Ernährungsgewohnheiten und sportliche Aktivität undokumentiert. Die Anzahl der Parameter bei dem gegebenen Stichprobenumfang könnte einerseits dazu führen, dass geringgradige Effekte übersehen werden oder detektierte Effekte überbewertet werden. Um dieses Risiko zu mindern, wurden die Ergebnisse der Summenwerte stärker gewichtet. Weiterhin wird parallel eine Auswertung mittels dimensionsreduzierender Verfahren (Hauptkomponentenanalyse) durchgeführt. Ebenso steht die Auswertung zur PLA<sub>2</sub> und zur Assoziation mit der Psychopathologie noch aus, sodass die hier getroffenen Schlussfolgerungen als vorläufig zu betrachten sind.

In weiterführenden Studien wären eine erweiterte Dokumentation (Ernährungsgewohnheiten, Sport etc.) und eine größere Fallzahl (ggf. multizentrisches Studiendesign) erstrebenswert.

Bezüglich der durchgeführten Arbeitsschritte im zertifizierten Labor des Institut für Ernährungsphysiologie der FSU Jena sind trotz größter Sorgfalt Fehlerquellen, insbesondere Pipettierungsfehler, möglich.

Weiterhin unterliegen die gemessenen Fettsäurekonzentrationen einer anzunehmenden physiologischen Schwankung, sowohl bei Patienten als auch Kontrollprobanden. Um diesen Fehler

möglichst gering zu halten, wurde die inhaltliche Argumentation vorrangig auf den Summenwerten aufgebaut.

## **7 Schlussfolgerungen**

Die vorliegende Arbeit untersuchte die Fettsäureprofile von Lipidfraktionen des Plasmas und der Erythrozytenmembran im Blut einer Patientenstichprobe, die sich in der Phase der frühen Akutmanifestation schizophrener Erkrankungen befand und dadurch ein außergewöhnliches Kollektiv darstellte. Im Einklang mit der aktuellen Studienlage zeigten sich bei der Fettsäureanalyse Konzentrationsunterschiede, insbesondere bei mehrfach ungesättigten Fettsäuren, zwischen Patienten und Kontrollprobanden, die nicht ausreichend durch unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten erklärbar sind. Insbesondere durch die Analyse der Sphingomyelinfraktion der Erythrozytenmembran, welche in ihrer Zusammensetzung neuronalen Membranen ähnelt, erhofften wir uns, einen tieferen Einblick in den Lipidstoffwechsel des zentralen Nervensystems zu erlangen. Die in dieser Fraktion bei Patienten signifikant niedrigere Konzentration der Arachidonsäure stellt einen der Hauptbefunde dieser Arbeit dar und ist in der Literatur bisher nicht vorbeschrieben. Durch die Einbindung der AA in die Regulation von Hirnentwicklung- und Differenzierung, dopaminerger/glutamaterger Neurotransmission, Endocannabinoidsystem, inflammatorischen und unspezifischen Immunprozessen und Neurodegeneration sowie die sich hieraus ergebenden Therapieansätze (antiinflammatorisch, PUFA-substituierend, Cannabinoid-modulierend) sind die hier aufgedeckten verminderten Konzentrationen in verschiedenen Fraktionen (insbesondere der SM-Fraktion) bedeutsam und in Bezug auf weiterführende Forschung vielversprechend. Mögliche Funktionsstörungen der am Sphingomyelinstoffwechsel beteiligten Enzyme (Sphingomyelinasen, Ceramidasen) bedürfen weiterer Untersuchung.

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse untermauern die Hypothese, dass bei schizophren Erkrankten ein veränderter Lipidmetabolismus, insbesondere der Omega-6-Familie, im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden besteht. Zu erwähnen ist auch der bisher nicht vorbeschriebene Befund in der Familie der trans-Fettsäuren, der weiterer Abklärung bedarf.

Die Ergebnisse dieser Arbeit legen nahe, dass eine differenzierte Fettsäureanalyse in verschiedenen Lipidfraktionen zum Erkenntnisgewinn beiträgt. Viele Studien konnten Alterationen im Lipidstoffwechsel schizophrener Patienten zeigen, jedoch differieren die spezifischen Ergebnisse stark je nach Krankheitsstadium, Medikation, vorherrschender Symptomatik und vielen weiteren Einflussfaktoren. Das in dieser Arbeit untersuchte Patientenkollektiv zeigt in Zusammenschau der Ergebnisse relativ diskrete Unterschiede der Fettsäurekonzentrationen im Vergleich zu Kontrollprobanden. Jedoch konnte durch die Messung und Auswertung der SM-Fraktion erstmals ein indirekter Einblick in den Lipidstoffwechsel vornehmlich der weißen Hirnsubstanz genommen werden, wobei sich signifikante Alterationen im Arachidonsäurestoffwechsel herausstellten und eine gewisse Abkopplung vom Metabolismus der anderen Lipid-Fraktionen. Zukünftige Studien

hinsichtlich der Fettsäurezusammensetzung der Sphingomyelinfraktion der Erythrozytenmembran bei Schizophrenen wären wünschenswert, um die Ergebnisse dieser Arbeit verifizieren zu können. Insbesondere dem Arachidonsäurestoffwechsel sollte aufgrund der vielfältigen pathophysiologischen Einbindung, der vergleichsweise leichten diagnostischen Zugänglichkeit und der therapeutischen Beeinflussbarkeit eine hohe Beachtung geschenkt werden.

## 8 Literatur- und Quellenverzeichnis

- Abood, M. E., & Martin, B. R. (1992). Neurobiology of marijuana abuse. *Trends Pharmacol Sci*, 13(5), 201-206.
- Aleman, A., Kahn, R. S., & Selten, J. P. (2003). Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry*, 60(6), 565-571. doi: 10.1001/archpsyc.60.6.565
- Amminger, G. P., Schafer, M. R., Papageorgiou, K., Klier, C. M., Cotton, S. M., Harrigan, S. M., Berger, G. E. (2010). Long-chain omega-3 fatty acids for indicated prevention of psychotic disorders: a randomized, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry*, 67(2), 146-154. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.192
- Anderson, Breanne M., & Ma, David WL. (2009). Are all n-3 polyunsaturated fatty acids created equal? *Lipids in Health and Disease*, 8(1), 33. doi: 10.1186/1476-511x-8-33
- Andreasen, N. C., Carpenter, W. T., Jr., Kane, J. M., Lasser, R. A., Marder, S. R., & Weinberger, D. R. (2005). Remission in schizophrenia: proposed criteria and rationale for consensus. *Am J Psychiatry*, 162(3), 441-449. doi: 10.1176/appi.ajp.162.3.441
- Arnone, D., McIntosh, A. M., Tan, G. M., & Ebmeier, K. P. (2008). Meta-analysis of magnetic resonance imaging studies of the corpus callosum in schizophrenia. *Schizophr Res*, 101(1-3), 124-132. doi: 10.1016/j.schres.2008.01.005
- Arvindakshan, M., Ghate, M., Ranjekar, P. K., Evans, D. R., & Mahadik, S. P. (2003). Supplementation with a combination of omega-3 fatty acids and antioxidants (vitamins E and C) improves the outcome of schizophrenia. *Schizophr Res*, 62(3), 195-204.
- Arvindakshan, M., Sitasawad, S., Debsikdar, V., Ghate, M., Evans, D., Horrobin, D. F., Mahadik, S. P. (2003). Essential polyunsaturated fatty acid and lipid peroxide levels in never-medicated and medicated schizophrenia patients. *Biol Psychiatry*, 53(1), 56-64.
- Assies, J., Lieverse, R., Vreken, P., Wanders, R. J., Dingemans, P. M., & Linszen, D. H. (2001). Significantly reduced docosahexaenoic and docosapentaenoic acid concentrations in erythrocyte membranes from schizophrenic patients compared with a carefully matched control group. *Biol Psychiatry*, 49(6), 510-522.
- Baiano, M., David, A., Versace, A., Churchill, R., Balestrieri, M., & Brambilla, P. (2007). Anterior cingulate volumes in schizophrenia: a systematic review and a meta-analysis of MRI studies. *Schizophr Res*, 93(1-3), 1-12. doi: 10.1016/j.schres.2007.02.012
- Bazan, N. G. (2005). Neuroprotectin D1 (NPD1): a DHA-derived mediator that protects brain and retina against cell injury-induced oxidative stress. *Brain Pathol*, 15(2), 159-166.
- Bechter, K. (2013). Updating the mild encephalitis hypothesis of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 42, 71-91. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.06.019
- Benowitz, L. I., & Routtenberg, A. (1997). GAP-43: an intrinsic determinant of neuronal development and plasticity. *Trends Neurosci*, 20(2), 84-91.
- Bentsen, H., Solberg, D. K., Refsum, H., & Bohmer, T. (2012). Clinical and biochemical validation of two endophenotypes of schizophrenia defined by levels of polyunsaturated fatty acids in red blood cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 87(1), 35-41. doi: 10.1016/j.plefa.2012.05.005
- Bentsen, H., Solberg, D.K., Refsum, H., Gran, J.M., Bøhmer, T., Torjesen, P.A., Lingjærde, O. (2011). Bimodal Distribution of Polyunsaturated Fatty Acids in Schizophrenia Suggests Two Endophenotypes of the Disorder. *Biol Psychiatry*, Epub ahead of print.
- Bonsch, D., Wunschel, M., Lenz, B., Janssen, G., Weisbrod, M., & Sauer, H. (2012). Methylation matters? Decreased methylation status of genomic DNA in the blood of schizophrenic twins. *Psychiatry Res*, 198(3), 533-537. doi: 10.1016/j.psychres.2011.09.004
- Brenna, J. T., Salem, N., Sinclair, A. J., Cunnane, S. C., & Issfal. (2009). alpha-Linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in

- humans. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 80(2-3), 85-91. doi: 10.1016/j.plefa.2009.01.004
- Brouwer, I. A., Wanders, A. J., & Katan, M. B. (2010). Effect of animal and industrial trans fatty acids on HDL and LDL cholesterol levels in humans--a quantitative review. *PLoS One*, 5(3), e9434. doi: 10.1371/journal.pone.0009434
- Brown, A. S. (2011). The environment and susceptibility to schizophrenia. *Prog Neurobiol*, 93(1), 23-58. doi: 10.1016/j.pneurobio.2010.09.003
- Cadet, J. L., Hu, M., & Jackson-Lewis, V. (1989). Behavioral and biochemical effects of intranigral injection of phospholipase-A2. *Biol Psychiatry*, 26(1), 106-110.
- Calder, P. C. (2001). Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *Lipids*, 36(9), 1007-1024.
- Carlson, S. E., Carver, J. D., & House, S. G. (1986). High fat diets varying in ratios of polyunsaturated to saturated fatty acid and linoleic to linolenic acid: a comparison of rat neural and red cell membrane phospholipids. *J Nutr*, 116(5), 718-725.
- Christensen, O., & Christensen, E. (1988). Fat consumption and schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand*, 78(5), 587-591.
- Cornblatt, B., Obuchowski, M., Roberts, S., Pollack, S., & Erlenmeyer-Kimling, L. (1999). Cognitive and behavioral precursors of schizophrenia. *Dev Psychopathol*, 11(3), 487-508.
- Davidson, B., Kurstjens, N. P., Patton, J., & Cantrill, R. C. (1988). Essential fatty acids modulate apomorphine activity at dopamine receptors in cat caudate slices. *Eur J Pharmacol*, 149(3), 317-322.
- Davis, K. L., Stewart, D. G., Friedman, J. I., Buchsbaum, M., Harvey, P. D., Hof, P. R., Haroutunian, V. (2003). White matter changes in schizophrenia: evidence for myelin-related dysfunction. *Arch Gen Psychiatry*, 60(5), 443-456.
- Dean, B., Sundram, S., Bradbury, R., Scarr, E., & Copolov, D. (2001). Studies on [3H]CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. *Neuroscience*, 103(1), 9-15.
- DeLisi, L. E. (2008). The concept of progressive brain change in schizophrenia: implications for understanding schizophrenia. *Schizophr Bull*, 34(2), 312-321. doi: 10.1093/schbul/sbm164
- Demisch, L., Heinz, K., Gerbaldo, H., & Kirsten, R. (1992). Increased Concentrations of Phosphatidylinositol (Pi) and Decreased Esterification of Arachidonic-Acid into Phospholipids in Platelets from Patients with Schizoaffective Disorders or Atypical Phasic Psychoses. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 46(1), 47-52. doi: Doi 10.1016/0952-3278(92)90058-Q
- Dougherty, R. M., Galli, C., Ferro-Luzzi, A., & Iacono, J. M. (1987). Lipid and phospholipid fatty acid composition of plasma, red blood cells, and platelets and how they are affected by dietary lipids: a study of normal subjects from Italy, Finland, and the USA. *Am J Clin Nutr*, 45(2), 443-455.
- Evans, D. R., Parikh, V. V., Khan, M. M., Coussons, C., Buckley, P. F., & Mahadik, S. P. (2003). Red blood cell membrane essential fatty acid metabolism in early psychotic patients following antipsychotic drug treatment. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 69(6), 393-399.
- Fang, K. M., Chang, W. L., Wang, S. M., Su, M. J., & Wu, M. L. (2008). Arachidonic acid induces both Na<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> entry resulting in apoptosis. *J Neurochem*, 104(5), 1177-1189. doi: 10.1111/j.1471-4159.2007.05022.x
- Farooqui, A. A., Ong, W. Y., & Horrocks, L. A. (2004). Biochemical aspects of neurodegeneration in human brain: involvement of neural membrane phospholipids and phospholipases A2. *Neurochem Res*, 29(11), 1961-1977.
- Fenton, W. S., Dickerson, F., Boronow, J., Hibbeln, J. R., & Knable, M. (2001). A placebo-controlled trial of omega-3 fatty acid (ethyl eicosapentaenoic acid) supplementation

- for residual symptoms and cognitive impairment in schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 158(12), 2071-2074.
- Ferretjans, R., Moreira, F. A., Teixeira, A. L., & Salgado, J. V. (2012). The endocannabinoid system and its role in schizophrenia: a systematic review of the literature. *Rev Bras Psiquiatr*, 34 Suppl 2, S163-177.
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*, 226(1), 497-509.
- Friedman, H. I., & Nylund, B. (1980). Intestinal fat digestion, absorption, and transport. A review. *Am J Clin Nutr*, 33(5), 1108-1139.
- Fusar-Poli, P., & Berger, G. (2012). Eicosapentaenoic acid interventions in schizophrenia: meta-analysis of randomized, placebo-controlled studies. *J Clin Psychopharmacol*, 32(2), 179-185. doi: 10.1097/JCP.0b013e318248b7bb
- Gattaz, W. F., Behrens, S., De Vry, J., & Häfner, H. (1992). Estradiol inhibits dopamine mediated behavior in rats--an animal model of sex-specific differences in schizophrenia. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 60(1), 8-16. doi: 10.1055/s-2007-999120
- Gattaz, W. F., & Brunner, J. (1996). Phospholipase A2 and the hypofrontality hypothesis of schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 55(1-2), 109-113.
- Gattaz, W. F., Hubner, C. V., Nevalainen, T. J., Thuren, T., & Kinnunen, P. K. (1990). Increased serum phospholipase A2 activity in schizophrenia: a replication study. *Biol Psychiatry*, 28(6), 495-501.
- Gattaz, W. F., Kollisch, M., Thuren, T., Virtanen, J. A., & Kinnunen, P. K. (1987). Increased plasma phospholipase-A2 activity in schizophrenic patients: reduction after neuroleptic therapy. *Biol Psychiatry*, 22(4), 421-426.
- Giuffrida, A., Leweke, F. M., Gerth, C. W., Schreiber, D., Koethe, D., Faulhaber, J., Piomelli, D. (2004). Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology*, 29(11), 2108-2114.
- Glahn, D. C., Ragland, J. D., Abramoff, A., Barrett, J., Laird, A. R., Bearden, C. E., & Velligan, D. I. (2005). Beyond hypofrontality: a quantitative meta-analysis of functional neuroimaging studies of working memory in schizophrenia. *Hum Brain Mapp*, 25(1), 60-69. doi: 10.1002/hbm.20138
- Glen, A. I., Cooper, S. J., Rybakowski, J., Vaddadi, K., Brayshaw, N., & Horrobin, D. F. (1996). Membrane fatty acids, niacin flushing and clinical parameters. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 55(1-2), 9-15.
- Glen, A. I., Glen, E. M., Horrobin, D. F., Vaddadi, K. S., Spellman, M., Morse-Fisher, N., Skinner, F. S. (1994). A red cell membrane abnormality in a subgroup of schizophrenic patients: evidence for two diseases. *Schizophr Res*, 12(1), 53-61.
- Grammatikos, S. I., Subbaiah, P. V., Victor, T. A., & Miller, W. M. (1994). Diversity in the ability of cultured cells to elongate and desaturate essential (n-6 and n-3) fatty acids. *Ann N Y Acad Sci*, 745, 92-105.
- Hafner, H., & an der Heiden, W. (1999). The course of schizophrenia in the light of modern follow-up studies: the ABC and WHO studies. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 249(Suppl 4), 14-26.
- Häfner, H., & an der Heiden, W. (1997). Epidemiology of schizophrenia. *Can J Psychiatry*, 42(2), 139-151.
- Hambrecht, M., Maurer, K., Häfner, H., & Sartorius, N. (1992). Transnational stability of gender differences in schizophrenia? An analysis based on the WHO study on determinants of outcome of severe mental disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 242(1), 6-12.
- Henn, F. A. (1978). Dopamine and schizophrenia. A therapy revisited and revised. *Lancet*, 2(8084), 293-295.
- Hoen, W. P., Lijmer, J. G., Duran, M., Wanders, R. J., van Beveren, N. J., & de Haan, L. (2013). Red blood cell polyunsaturated fatty acids measured in red blood cells and

- schizophrenia: a meta-analysis. *Psychiatry Res*, 207(1-2), 1-12. doi: 10.1016/j.psychres.2012.09.041
- Horrobin, D. F. (1977). Schizophrenia as a prostaglandin deficiency disease. *Lancet*, 1(8018), 936-937.
- Horrobin, D. F. (1998). The membrane phospholipid hypothesis as a biochemical basis for the neurodevelopmental concept of schizophrenia. *Schizophr Res*, 30(3), 193-208.
- Horrobin, D. F., Ally, A. I., Karmali, R. A., Karmazyn, M., Manku, M. S., & Morgan, R. O. (1978). Prostaglandins and schizophrenia: further discussion of the evidence. *Psychol Med*, 8(1), 43-48.
- Horrobin, D. F., Glen, A. I., & Vaddadi, K. (1994). The membrane hypothesis of schizophrenia. *Schizophr Res*, 13(3), 195-207.
- Horrobin, D. F., Manku, M. S., Hillman, H., Iain, A., & Glen, M. (1991). Fatty acid levels in the brains of schizophrenics and normal controls. *Biol Psychiatry*, 30(8), 795-805.
- Horrobin, D. F., Manku, M. S., Morse-Fisher, N., Vaddadi, K. S., Courtney, P., Glen, A. I., Bates, C. (1989). Essential fatty acids in plasma phospholipids in schizophrenics. *Biol Psychiatry*, 25(5), 562-568.
- Howes, O. D., & Kapur, S. (2009). The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophr Bull*, 35(3), 549-562. doi: 10.1093/schbul/sbp006
- Hufner, K., Frajo-Apor, B., & Hofer, A. (2015). Neurology issues in schizophrenia. *Curr Psychiatry Rep*, 17(5), 32. doi: 10.1007/s11920-015-0570-4
- Ichihara, K., & Fukubayashi, Y. (2010). Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *J Lipid Res*, 51(3), 635-640. doi: 10.1194/jlr.D001065
- Jablensky, A. (2000). Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 250(6), 274-285.
- Jablensky, A., Sartorius, N., Ernberg, G., Anker, M., Korten, A., Cooper, J. E., Bertelsen, A. (1992). Schizophrenia: manifestations, incidence and course in different cultures. A World Health Organization ten-country study. *Psychol Med Monogr Suppl*, 20, 1-97.
- Kaiya, H., Horrobin, D. F., Manku, M. S., & Fisher, N. M. (1991). Essential and other fatty acids in plasma in schizophrenics and normal individuals from Japan. *Biol Psychiatry*, 30(4), 357-362.
- Kalish, B. T., Fallon, E. M., & Puder, M. (2012). A tutorial on fatty acid biology. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 36(4), 380-388. doi: 10.1177/0148607112449650
- Khan, M. M., Evans, D. R., Gunna, V., Scheffer, R. E., Parikh, V. V., & Mahadik, S. P. (2002). Reduced erythrocyte membrane essential fatty acids and increased lipid peroxides in schizophrenia at the never-medicated first-episode of psychosis and after years of treatment with antipsychotics. *Schizophr Res*, 58(1), 1-10.
- Kubicki, M., McCarley, R., Westin, C. F., Park, H. J., Maier, S., Kikinis, R., Shenton, M. E. (2007). A review of diffusion tensor imaging studies in schizophrenia. *J Psychiatr Res*, 41(1-2), 15-30.
- Lasch, J., Willhardt, I., Kinder, D., Sauer, H., & Smesny, S. (2003). Fluorometric assays of phospholipase A2 activity with three different substrates in biological samples of patients with schizophrenia. *Clin Chem Lab Med*, 41(7), 908-914. doi: 10.1515/CCLM.2003.138
- Lawson, W. B., Karson, C. N., & Bigelow, L. B. (1985). Increased urine volume in chronic schizophrenic patients. *Psychiatry Res*, 14(4), 323-331.
- Leroy, S., Griffon, N., Bourdel, M. C., Olie, J. P., Poirier, M. F., & Krebs, M. O. (2001). Schizophrenia and the cannabinoid receptor type 1 (CB1): association study using a single-base polymorphism in coding exon 1. *Am J Med Genet*, 105(8), 749-752.
- Leweke, F. M., Giuffrida, A., Wurster, U., Emrich, H. M., & Piomelli, D. (1999). Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. *Neuroreport*, 10(8), 1665-1669.

- Loebel, A. D., Lieberman, J. A., Alvir, J. M., Mayerhoff, D. I., Geisler, S. H., & Szymanski, S. R. (1992). Duration of psychosis and outcome in first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 149(9), 1183-1188.
- Mahadik, S. P., Mukherjee, S., Horrobin, D. F., Jenkins, K., Correnti, E. E., & Scheffer, R. E. (1996). Plasma membrane phospholipid fatty acid composition of cultured skin fibroblasts from schizophrenic patients: comparison with bipolar patients and normal subjects. *Psychiatry Res*, 63(2-3), 133-142.
- McNamara, R. K., Jandacek, R., Rider, T., Tso, P., Hahn, C. G., Richtand, N. M., & Stanford, K. E. (2007). Abnormalities in the fatty acid composition of the postmortem orbitofrontal cortex of schizophrenic patients: gender differences and partial normalization with antipsychotic medications. *Schizophr Res*, 91(1-3), 37-50. doi: 10.1016/j.schres.2006.11.027
- Mellor, J. E., Laugharne, J. D., & Peet, M. (1995). Schizophrenic symptoms and dietary intake of n-3 fatty acids. *Schizophr Res*, 18(1), 85-86.
- Menaa, F., Menaa, A., Menaa, B., & Treton, J. (2013). Trans-fatty acids, dangerous bonds for health? A background review paper of their use, consumption, health implications and regulation in France. *Eur J Nutr*, 52(4), 1289-1302. doi: 10.1007/s00394-012-0484-4
- Messamore, E., Hoffman, W. F., & Yao, J. K. (2010). Niacin sensitivity and the arachidonic acid pathway in schizophrenia. *Schizophr Res*, 122(1-3), 248-256. doi: 10.1016/j.schres.2010.03.025
- Modestin, J., Huber, A., Satirli, E., Malti, T., & Hell, D. (2003). Long-term course of schizophrenic illness: Bleuler's study reconsidered. *Am J Psychiatry*, 160(12), 2202-2208.
- Muller, N. (2004). Immunological and infectious aspects of schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 254(1), 1-3.
- Muller, N., Myint, A. M., Krause, D., Weidinger, E., & Schwarz, M. J. (2013). Anti-inflammatory treatment in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 42, 146-153. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.11.008
- Naor, Z., Shearman, M. S., Kishimoto, A., & Nishizuka, Y. (1988). Calcium-independent activation of hypothalamic type I protein kinase C by unsaturated fatty acids. *Mol Endocrinol*, 2(11), 1043-1048. doi: 10.1210/mend-2-11-1043
- Nitta, M., Kishimoto, T., Muller, N., Weiser, M., Davidson, M., Kane, J. M., & Correll, C. U. (2013). Adjunctive use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs for schizophrenia: a meta-analytic investigation of randomized controlled trials. *Schizophr Bull*, 39(6), 1230-1241. doi: 10.1093/schbul/sbt070
- Nuechterlein, K. H., & Dawson, M. E. (1984). A heuristic vulnerability/stress model of schizophrenic episodes. *Schizophr Bull*, 10(2), 300-312.
- Nunez, E. A. (1993). Fatty acids and cell signalling. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 48(1), 1-4.
- O'Brien, J. S., & Sampson, E. L. (1965). Lipid composition of the normal human brain: gray matter, white matter, and myelin. *J Lipid Res*, 6(4), 537-544.
- Ohara, K. (2007). The n-3 polyunsaturated fatty acid/dopamine hypothesis of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 31(2), 469-474. doi: 10.1016/j.pnpbp.2006.11.013
- Pangerl, A.M., Steudle, A., Jaroni, H.W., Rufer, R., & Gattaz, W.F. (1991). Increased platelet membrane lysophosphatidylcholine in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 30, 837-840.
- Patterson, P. H. (2009). Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology, pathology and animal models. *Behav Brain Res*, 204(2), 313-321. doi: 10.1016/j.bbr.2008.12.016
- Perala, J., Suvisaari, J., Saarni, S. I., Kuoppasalmi, K., Isometsa, E., Pirkola, S., Lonnqvist, J. (2007). Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. *Arch Gen Psychiatry*, 64(1), 19-28. doi: 10.1001/archpsyc.64.1.19



- Perrone-Bizzozero, N. I., Sower, A. C., Bird, E. D., Benowitz, L. I., Ivins, K. J., & Neve, R. L. (1996). Levels of the growth-associated protein GAP-43 are selectively increased in association cortices in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93(24), 14182-14187.
- Peterson, B. L., & Cummings, B. S. (2006). A review of chromatographic methods for the assessment of phospholipids in biological samples. *Biomed Chromatogr*, 20(3), 227-243. doi: 10.1002/bmc.563
- Pettegrew, J. W., Keshavan, M. S., Panchalingam, K., Strychor, S., Kaplan, D. B., Tretta, M. G., & Allen, M. (1991). Alterations in brain high-energy phosphate and membrane phospholipid metabolism in first-episode, drug-naïve schizophrenics. A pilot study of the dorsal prefrontal cortex by in vivo phosphorus 31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry*, 48(6), 563-568.
- Piomelli, D., Shapiro, E., Feinmark, S. J., & Schwartz, J. H. (1987). Metabolites of arachidonic acid in the nervous system of Aplysia: possible mediators of synaptic modulation. *J Neurosci*, 7(11), 3675-3686.
- Rao, J. S., Kim, H. W., Harry, G. J., Rapoport, S. I., & Reese, E. A. (2013). Increased neuroinflammatory and arachidonic acid cascade markers, and reduced synaptic proteins, in the postmortem frontal cortex from schizophrenia patients. *Schizophr Res*, 147(1), 24-31. doi: 10.1016/j.schres.2013.02.017
- Ratnayake, W. M., & Galli, C. (2009). Fat and fatty acid terminology, methods of analysis and fat digestion and metabolism: a background review paper. *Ann Nutr Metab*, 55(1-3), 8-43. doi: 10.1159/000228994
- Reddy, R. D., Keshavan, M. S., & Yao, J. K. (2004). Reduced red blood cell membrane essential polyunsaturated fatty acids in first episode schizophrenia at neuroleptic-naïve baseline. *Schizophr Bull*, 30(4), 901-911.
- Riboli, E., Ronnholm, H., & Saracci, R. (1987). Biological markers of diet. *Cancer Surv*, 6(4), 685-718.
- Rodriguez-Sanchez, J. M., Crespo-Facorro, B., Perez-Iglesias, R., Gonzalez-Blanch, C., Alvarez-Jimenez, M., Llorca, J., & Vazquez-Barquero, J. L. (2005). Prefrontal cognitive functions in stabilized first-episode patients with schizophrenia spectrum disorders: a dissociation between dorsolateral and orbitofrontal functioning. *Schizophr Res*, 77(2-3), 279-288. doi: 10.1016/j.schres.2005.04.023
- Ross, B. M., Hudson, C., Erlich, J., Warsh, J. J., & Kish, S. J. (1997). Increased phospholipid breakdown in schizophrenia. Evidence for the involvement of a calcium-independent phospholipase A2 [see comments]. *Arch Gen Psychiatry*, 54(5), 487-494.
- Ross, B. M., Turenne, S., Moszczynska, A., Warsh, J. J., & Kish, S. J. (1999). Differential alteration of phospholipase A2 activities in brain of patients with schizophrenia. *Brain Res*, 821(2), 407-413.
- Saadatian-Elahi, M., Slimani, N., Chajes, V., Jenab, M., Goudable, J., Biessy, C., Riboli, E. (2009). Plasma phospholipid fatty acid profiles and their association with food intakes: results from a cross-sectional study within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89(1), 331-346. doi: DOI 10.3945/ajcn.2008.26834
- Salvati, S., Natali, F., Attorri, L., Di Benedetto, R., Leonardi, F., Di Biase, A., Vitelli, L. (2008). Eicosapentaenoic acid stimulates the expression of myelin proteins in rat brain. *J Neurosci Res*, 86(4), 776-784. doi: 10.1002/jnr.21537
- Schenkel, L. S., & Silverstein, S. M. (2004). Dimensions of premorbid functioning in schizophrenia: a review of neuromotor, cognitive, social, and behavioral domains. *Genet Soc Gen Psychol Monogr*, 130(3), 241-270. doi: 10.3200/MONO.130.3.241-272
- Schmael, C., Georgi, A., Krumm, B., Buerger, C., Deschner, M., Nothen, M. M., Rietschel, M. (2007). Premorbid adjustment in schizophrenia--an important aspect of phenotype definition. *Schizophr Res*, 92(1-3), 50-62. doi: 10.1016/j.schres.2007.01.016

- Sethom, M. M., Fares, S., Bouaziz, N., Melki, W., Jemaa, R., Feki, M., Kaabachi, N. (2010). Polyunsaturated fatty acids deficits are associated with psychotic state and negative symptoms in patients with schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 83(3), 131-136. doi: 10.1016/j.plefa.2010.07.001
- Skosnik, P. D., & Yao, J. K. (2003). From membrane phospholipid defects to altered neurotransmission: is arachidonic acid a nexus in the pathophysiology of schizophrenia? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 69(6), 367-384.
- Smesny, S., Riemann, S., Riehemann, S., Bellemann, M. E., & Sauer, H. (2001). Quantitative determination of Niacin-induced skin redness using Optical reflection spectroscopy - methods and clinical application on schizophrenic patients. *World J Biol Psychiatry*, 2 S1, 284S-285S.
- Smesny, S., Kinder, D., Willhardt, I., Rosburg, T., Lasch, J., Berger, G., & Sauer, H. (2005). Increased calcium-independent phospholipase A2-activity in first episode but not in chronic schizophrenia -Further evidence of sustained lipid damage at the onset of disorder. *Biological Psychiatry*, in press.
- Smesny, S., Milleit, B., Hipler, U. C., Milleit, C., Schafer, M. R., Klier, C. M., Amminger, G. P. (2014). Omega-3 fatty acid supplementation changes intracellular phospholipase A2 activity and membrane fatty acid profiles in individuals at ultra-high risk for psychosis. *Mol Psychiatry*, 19(3), 317-324. doi: 10.1038/mp.2013.7
- Smesny, S., Milleit, B., Nenadic, I., Preul, C., Kinder, D., Lasch, J., Gaser, C. (2010). Phospholipase A2 activity is associated with structural brain changes in schizophrenia. *Neuroimage*, 52(4), 1314-1327. doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.05.009
- Someya, A., Horie, S., & Murayama, T. (2002). Arachidonic acid release and prostaglandin F(2alpha) formation induced by anandamide and capsaicin in PC12 cells. *Eur J Pharmacol*, 450(2), 131-139.
- Sower, A. C., Bird, E. D., & Perrone-Bizzozero, N. I. (1995). Increased levels of GAP-43 protein in schizophrenic brain tissues demonstrated by a novel immunodetection method. *Mol Chem Neuropathol*, 24(1), 1-11.
- Stanford, J. L., King, I., & Kristal, A. R. (1991). Long-term storage of red blood cells and correlations between red cell and dietary fatty acids: results from a pilot study. *Nutr Cancer*, 16(3-4), 183-188. doi: 10.1080/01635589109514156
- Steen, R. G., Mull, C., McClure, R., Hamer, R. M., & Lieberman, J. A. (2006). Brain volume in first-episode schizophrenia: systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Br J Psychiatry*, 188, 510-518.
- Sugiura, T., Kobayashi, Y., Oka, S., & Waku, K. (2002). Biosynthesis and degradation of anandamide and 2-arachidonoylglycerol and their possible physiological significance. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 66(2-3), 173-192. doi: 10.1054/plef.2001.0356
- Sun, G. Y., Xu, J., Jensen, M. D., & Simonyi, A. (2004). Phospholipase A2 in the central nervous system: implications for neurodegenerative diseases. *J Lipid Res*, 45(2), 205-213. doi: 10.1194/jlr.R300016-JLR200
- Taketo, M.M., & Masahiro, S. (2002). Phospholipase A2 and apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1585, 72-76.
- Tamminga, C. A., Thaker, G. K., Buchanan, R., Kirkpatrick, B., Alphs, L. D., Chase, T. N., & Carpenter, W. T. (1992). Limbic system abnormalities identified in schizophrenia using positron emission tomography with fluorodeoxyglucose and neocortical alterations with deficit syndrome. *Arch Gen Psychiatry*, 49(7), 522-530.
- Tandon, R., Nasrallah, H. A., & Keshavan, M. S. (2009). Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophr Res*, 110(1-3), 1-23. doi: 10.1016/j.schres.2009.03.005
- Taylor, D. L., Jones, F., Kubota, E. S., & Pocock, J. M. (2005). Stimulation of microglial metabotropic glutamate receptor mGlu2 triggers tumor necrosis factor alpha-induced

- neurotoxicity in concert with microglial-derived Fas ligand. *J Neurosci*, 25(11), 2952-2964. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4456-04.2005
- Ujike, H., Takaki, M., Nakata, K., Tanaka, Y., Takeda, T., Kodama, M., Kuroda, S. (2002). CNR1, central cannabinoid receptor gene, associated with susceptibility to hebephrenic schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 7(5), 515-518. doi: 10.1038/sj.mp.4001029
- Vial, D., & Piomelli, D. (1995). Dopamine D2 receptors potentiate arachidonate release via activation of cytosolic, arachidonate-specific phospholipase A2. *J Neurochem*, 64(6), 2765-2772.
- Wang, Y., Botolin, D., Xu, J., Christian, B., Mitchell, E., Jayaprakasam, B., Jump, D. B. (2006). Regulation of hepatic fatty acid elongase and desaturase expression in diabetes and obesity. *J Lipid Res*, 47(9), 2028-2041. doi: 10.1194/jlr.M600177-JLR200
- Watt, D. C., Katz, K., & Shepherd, M. (1983). The natural history of schizophrenia: a 5-year prospective follow-up of a representative sample of schizophrenics by means of a standardized clinical and social assessment. *Psychol Med*, 13(3), 663-670.
- Williams, J. H., Errington, M. L., Lynch, M. A., & Bliss, T. V. (1989). Arachidonic acid induces a long-term activity-dependent enhancement of synaptic transmission in the hippocampus. *Nature*, 341(6244), 739-742. doi: 10.1038/341739a0
- Yagami, T. (2006). Cerebral arachidonate cascade in dementia: Alzheimer's disease and vascular dementia. *Curr Neuroparmacol*, 4(1), 87-100.
- Yao, J. K., Leonard, S., & Reddy, R. D. (2000). Membrane phospholipid abnormalities in postmortem brains from schizophrenic patients. *Schizophr Res*, 42(1), 7-17.
- Yao, J. K., van Kammen, D. P., & Welker, J. A. (1994). Red blood cell membrane dynamics in schizophrenia. II. Fatty acid composition. *Schizophr Res*, 13(3), 217-226.
- Yao, Jk, Stanley, J. A., Reddy, R. D., Keshavan, M. S., & Pettegrew, J. W. (2002). Correlations between peripheral polyunsaturated fatty acid content and in vivo membrane phospholipid metabolites. *Biol Psychiatry*, 52(8), 823-830.
- Yucel, M., Pantelis, C., Stuart, G. W., Wood, S. J., Maruff, P., Velakoulis, D., Egan, G. F. (2002). Anterior cingulate activation during Stroop task performance: a PET to MRI coregistration study of individual patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 159(2), 251-254. doi: 10.1176/appi.ajp.159.2.251
- Zou, K. H., Tuncali, K., & Silverman, S. G. (2003). Correlation and simple linear regression. *Radiology*, 227(3), 617-622. doi: 10.1148/radiol.2273011499

## 9 Anhang

### 9.1 Vollständige Tabellen der Mittelwertvergleiche der Fettsäureprofile

#### 9.1.1 Triacylglyceride

Tabelle 9: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der TAG-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol% (komplett)

Fettsäure TAG	Patienten (FEP)			Kontrollen (HC)			Signifikanz	
	n	MW	SD	n	MW	SD	P <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
C-11:0	31	0,9631	0,941	33	0,7210	0,681	0,240	0,506
C-12:0	30	0,3004	0,208	31	0,3096	0,147	0,842	0,363
C-12:1	31	0,0435	0,031	33	0,0370	0,021	0,317	0,596
C-13:0	31	0,0328	0,017	33	0,0334	0,018	0,904	0,941
C-14:iso	30	0,0982	0,057	32	0,0959	0,044	0,858	0,866
C-14:0	31	2,1850	1,163	33	2,4510	0,961	0,321	0,059
C-14:1c9	31	0,1746	0,131	32	0,1717	0,102	0,924	0,564
C-15:iso	29	0,0817	0,041	29	0,0939	0,029	0,197	0,095
C-15:0	31	0,3168	0,073	33	0,3330	0,091	0,436	0,523
C-16:iso	29	0,1883	0,108	29	0,1717	0,093	0,533	0,797
C-16:0	31	27,7383	3,457	33	28,1042	3,428	0,672	0,825
C-16:2t6,t7	29	0,1216	0,053	32	0,1167	0,060	0,740	0,718
C-16:1t9	30	0,0373	0,012	32	0,0381	0,015	0,825	0,704
C-16:1t10	30	0,0343	0,019	32	0,0317	0,019	0,600	0,517
C-16:1t11	30	0,0179	0,009	31	0,0185	0,009	0,806	0,908
C-16:1c9	31	3,7655	0,955	33	3,6629	1,467	0,743	0,292
C-17:iso	30	0,0958	0,036	33	0,0965	0,030	0,929	0,582
C-17:iso	31	0,1905	0,061	33	0,2049	0,061	0,347	0,310
C-17:0	31	0,3205	0,068	33	0,3175	0,056	0,848	0,920
C-16:4n1	29	0,0269	0,011	33	0,0282	0,014	0,694	0,677
C-17:1c10	31	0,0957	0,056	32	0,1042	0,049	0,524	0,409
C-18:0	31	3,8288	1,167	33	3,8336	0,759	0,984	0,586
C-18:1t6,t7	31	0,0575	0,024	32	0,0666	0,027	0,163	0,120
C-18:1t9	31	0,2281	0,054	32	0,2296	0,069	0,925	0,805
C-18:1t10	30	0,0929	0,038	29	0,0922	0,018	0,925	0,820
C-18:1t11	31	0,1134	0,056	32	0,1314	0,056	0,210	0,165
C-18:1t12	29	0,0961	0,038	30	0,0818	0,021	0,076	0,102
C-18:1t13	31	0,1171	0,045	31	0,1140	0,037	0,769	0,961
C-18:1t15	31	0,0401	0,018	31	0,0434	0,021	0,511	0,678
C-18:1c9 (OA)	31	38,7596	3,855	33	38,8408	4,266	0,937	0,633
C-18:1c11	31	2,4376	0,469	32	2,5506	0,518	0,368	0,254
C-18:1c12	31	0,0731	0,029	30	0,0738	0,025	0,923	0,840
C-18:1c13	30	0,2223	0,090	32	0,2333	0,117	0,682	0,944
C-18:2t9,c12	31	0,0565	0,040	33	0,0581	0,037	0,868	0,742
C-18:2n6 (LA)	31	12,2942	2,602	30	11,0234	2,258	0,046	0,015

C-18:3n6 (GLA)	31	0,2704	0,141	33	0,2295	0,110	0,198	0,337
C-18:3n3 (ALA)	31	0,8177	0,243	33	0,8438	0,354	0,734	0,920
CLA:c9,t11	31	0,0741	0,025	33	0,0794	0,033	0,477	0,712
CLA:c9,c11	29	0,0407	0,026	30	0,0406	0,039	0,992	0,660
CLA:t9,t11	29	0,0291	0,005	33	0,0290	0,009	0,946	0,950
C-20:0	30	0,1465	0,068	32	0,1402	0,052	0,683	0,822
C-20:1c11	29	0,3004	0,076	33	0,3619	0,089	0,005	0,005
C-20:2n6	31	0,1468	0,049	32	0,1525	0,063	0,691	0,510
C-20:3n6	31	0,2788	0,089	32	0,2719	0,072	0,733	0,752
C-20:4n6 (AA)	31	0,7236	0,223	33	0,6929	0,221	0,581	0,586
C-20:3n3	31	0,0279	0,013	33	0,0339	0,014	0,081	0,046
C-20:4n3	30	0,0431	0,030	33	0,0506	0,035	0,369	0,466
C-20:5n3 (EPA)	29	0,1676	0,065	33	0,1478	0,075	0,277	0,169
C-22:0	29	0,0758	0,040	30	0,0709	0,029	0,593	0,928
C-22:1c13	30	0,0232	0,017	33	0,0293	0,016	0,136	0,039
C-22:2n6	27	0,0947	0,060	30	0,0892	0,042	0,684	0,975
C-22:4n6	30	0,2371	0,050	32	0,2661	0,074	0,079	0,200
C-22:5n6	31	0,0799	0,032	33	0,0737	0,032	0,444	0,464
C-22:3n3	29	0,0177	0,009	33	0,0230	0,019	0,161	0,616
C-22:5n3 (DPA)	31	0,2178	0,085	33	0,1829	0,061	0,062	0,134
C-22:6n3 (DHA)	30	0,3099	0,137	32	0,2393	0,103	0,025	0,017
C-24:0	29	0,0180	0,013	29	0,0205	0,010	0,417	0,129
C24:1c15	27	0,0128	0,007	31	0,0122	0,007	0,731	0,749
ΣSFA	31	36,8637	5,125	33	37,3576	4,175	0,673	0,596
ΣMUFA	31	46,9373	3,764	33	47,0004	3,816	0,947	0,732
ΣPUFA	31	16,1765	2,992	30	14,6153	2,553	0,033	0,017
ΣC-18:1tFS	31	0,7691	0,252	31	0,7632	0,196	0,917	0,916
C-16:0/C-18:1c9	31	0,7283	0,145	32	0,7213	0,130	0,841	0,741
C-16:0/C-18:1ges	31	0,7132	0,139	32	0,7069	0,125	0,849	0,741
Σn3-FS	31	1,6453	0,431	33	1,5373	0,459	0,337	0,416
Σn6-FS	31	14,3105	2,725	30	12,8687	2,404	0,033	0,016
AA/EPA	31	4,4264	1,661	33	5,4285	2,037	0,036	0,049
n3-FS/n6-FS	30	0,1128	0,021	33	0,1168	0,040	0,632	0,536
[MCFA C:10-C14]	31	3,8733	1,851	33	3,9644	1,712	0,839	0,804

Mittelwerte (*MW*) ± Standardabweichung (*SD*).

$P^1$  - Wert des *t*-Tests für unabhängige Stichproben; \*  $p \leq .05$ .

$P^2$  - Wert des Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben \*  $p \leq .05$

## 9.1.2 Cholesterolester

Tabelle 10: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der CE-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol% (komplett)

Fettsäure CE	Patienten (FEP)			Kontrollen (HC)			Signifikanz	
	n	MW	SD	n	MW	SD	P <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
C-11:0	31	0,4094	0,244	33	0,3641	0,228	0,447	0,532
C-12:0	31	0,2215	0,065	32	0,1957	0,052	0,087	0,081
C-12:1	31	0,0498	0,018	33	0,0468	0,020	0,537	0,274
C-13:0	31	0,0320	0,008	33	0,0306	0,010	0,550	0,481
C-14:iso	31	0,0782	0,022	33	0,0773	0,025	0,882	0,793
C-14:0	31	0,8617	0,243	33	0,8842	0,225	0,701	0,568
C-14:1c9	31	0,0339	0,017	33	0,0368	0,014	0,454	0,214
C-15:iso	31	0,0283	0,013	32	0,0258	0,010	0,391	0,67
C-15:iso	31	0,0290	0,017	33	0,0257	0,011	0,350	0,793
C-15:0	31	0,1986	0,053	33	0,1887	0,038	0,390	0,624
C-16:iso	30	0,1322	0,029	32	0,1181	0,022	0,033	0,057
C-16:0	31	12,2222	0,816	33	12,2513	0,784	0,885	0,973
C-16:2t6,t7	30	0,0253	0,011	32	0,0203	0,010	0,072	0,032
C-16:1t9	31	0,0210	0,010	32	0,0174	0,007	0,094	0,127
C-16:1t10	31	0,0061	0,004	33	0,0066	0,004	0,594	0,456
C-16:1t11	31	0,0452	0,019	33	0,0496	0,019	0,361	0,35
C-16:1c9	31	3,0218	0,766	33	3,1943	1,233	0,507	0,814
C-17:iso	30	0,0673	0,012	33	0,0651	0,019	0,588	0,394
C-17:iso	31	0,1027	0,024	33	0,0982	0,025	0,464	0,472
C-17:0	31	0,1271	0,016	33	0,1202	0,021	0,148	0,092
C-16:4n1	31	0,0111	0,004	33	0,0094	0,004	0,083	0,031
C-17:1t10	31	0,1971	0,050	33	0,1993	0,043	0,845	0,416
C-17:1c10	31	0,0313	0,014	33	0,0298	0,013	0,666	0,773
C-18:iso	30	0,0201	0,006	33	0,0187	0,006	0,377	0,425
C-18:0	30	1,1679	0,223	33	1,0985	0,221	0,220	0,322
C-18:2t6,t7	31	0,0203	0,015	33	0,0295	0,017	0,024	0,02
C-18:1t9	31	0,0606	0,019	33	0,0635	0,019	0,543	0,867
C-18:1t10	31	0,0211	0,009	33	0,0199	0,010	0,604	0,394
C-18:1t11	31	0,0134	0,009	33	0,0146	0,009	0,610	0,586
C-18:1t12	31	0,0257	0,012	33	0,0226	0,008	0,223	0,344
C-18:1t13	31	0,0464	0,014	33	0,0453	0,014	0,752	0,506
C-18:1t15	31	0,0182	0,009	33	0,0194	0,010	0,633	0,814
C-18:1c9 (OA)	31	20,3802	2,129	33	20,4751	2,093	0,858	0,877
C-18:1c11	31	1,4138	0,271	33	1,4175	0,208	0,952	0,773
C-18:1c12	31	0,0309	0,012	33	0,0283	0,010	0,363	0,323
C-18:1c13	31	0,0800	0,027	32	0,0770	0,027	0,654	0,501
C-18:2t9,c12	31	0,0656	0,035	33	0,0645	0,029	0,895	0,722
C-18:2n6 (LA)	31	51,0885	3,264	33	50,9692	3,383	0,886	0,898
C-18:3n6 (GLA)	31	0,6547	0,333	33	0,6254	0,211	0,674	0,814
C-18:3n3 (ALA)	31	0,4444	0,105	33	0,4595	0,123	0,599	0,722
CLA:c9,t11	30	0,0329	0,009	33	0,0362	0,012	0,212	0,226
CLA:c9,c11	29	0,0155	0,007	32	0,0140	0,005	0,328	0,862

CLA:t9,t11	31	0,0214	0,006	33	0,0206	0,008	0,664	0,614
C-20:0	29	0,0565	0,019	33	0,0557	0,024	0,897	0,539
C-20:1c11	30	0,0128	0,005	33	0,0122	0,005	0,662	0,815
C-20:2n6	31	0,0793	0,039	33	0,0867	0,042	0,465	0,692
C-20:3n6	31	0,6117	0,130	33	0,6584	0,159	0,205	0,409
C-20:4n6 (AA)	31	4,3555	0,939	33	4,4956	0,663	0,491	0,31
C-20:3n3	31	0,0241	0,012	31	0,0232	0,009	0,751	0,607
C-21:0	31	0,0457	0,023	33	0,0460	0,028	0,958	0,888
C-20:5n3 (EPA)	31	0,5998	0,246	33	0,5244	0,222	0,203	0,224
C-22:0	29	0,0502	0,018	33	0,0488	0,022	0,783	0,425
C-22:1c13	31	0,0060	0,004	33	0,0054	0,004	0,543	0,472
C-22:2n6	30	0,0688	0,027	32	0,0635	0,023	0,406	0,422
C-22:4n6	31	0,0097	0,005	33	0,0093	0,003	0,668	0,835
C-22:5n6	31	0,0188	0,006	33	0,0195	0,006	0,634	0,624
C-22:3n3	31	0,0077	0,005	33	0,0049	0,003	0,007	0,007
C-22:5n3 (DPA)	31	0,0221	0,010	33	0,0155	0,008	0,003	0,005
C-22:6n3 (DHA)	31	0,3235	0,088	33	0,2835	0,069	0,046	0,075
C-24:0	31	0,0294	0,014	32	0,0218	0,009	0,013	0,045
C24:1c15 (NA)	25	0,0046	0,003	31	0,0050	0,004	0,685	0,837
ΣSFA	31	15,9056	0,995	33	15,7065	1,004	0,429	0,31
ΣMUFA	31	25,5731	2,514	33	25,8545	2,643	0,665	0,614
ΣPUFA	31	58,5213	2,930	33	58,4390	3,006	0,912	0,867
ΣC-18:1tFS	31	0,2057	0,056	33	0,2148	0,058	0,529	0,559
C-16:0/C-18:1c9	31	0,6061	0,074	33	0,6037	0,066	0,893	0,742
C-16:0/C-18:1ges	31	0,6000	0,074	33	0,5973	0,065	0,875	0,742
Σn3-FS	31	1,4672	0,326	33	1,3596	0,341	0,202	0,103
Σn6-FS	31	56,9675	3,021	33	56,9981	3,130	0,968	0,93
AA/EPA	31	8,3879	3,505	33	9,8107	3,696	0,120	0,105
n3-FS/n6-FS	31	0,0259	0,006	32	0,0234	0,006	0,102	0,086
[MCFA C:10-C14]	31	1,6864	0,445	33	1,6444	0,315	0,663	0,941

Mittelwerte (*MW*) ± Standardabweichung (*SD*).

$P^1$  -Wert des *t*-Tests für unabhängige Stichproben; \*  $p \leq .05$ .

$P^2$  - Wert des Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben \*  $p \leq .05$

### 9.1.3 Phospholipide

Tabelle 11: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der PL-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol% (komplett)

Fettsäure PL	Patienten (FEP)			Kontrollen (HC)			Signifikanz	
	n	Mittelwert	SD	n	Mittelwert	SD	P <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
C-12:0	30	0,0857	0,039	33	0,1023	0,062	0,215	0,457
C-14:0	31	0,4494	0,098	33	0,5009	0,105	0,047	0,071
C-15:0	31	0,2452	0,045	33	0,2412	0,042	0,717	0,762
C-16:iso	31	0,0872	0,062	32	0,0820	0,050	0,715	0,741
C-16:0	31	32,0687	2,343	33	32,0237	1,967	0,934	0,605
C-16:1t9	31	0,0368	0,013	33	0,0406	0,013	0,237	0,181
C-16:1c9	31	0,6676	0,144	33	0,6658	0,200	0,967	0,605
C-17:iso	31	0,2121	0,043	33	0,2123	0,042	0,988	0,93
C-17:aiso	31	0,1573	0,038	33	0,1673	0,037	0,288	0,337
C-17:0	31	0,3872	0,047	33	0,3758	0,054	0,374	0,409
C-18:0	30	15,6694	1,567	33	15,5346	1,528	0,731	0,847
C-18:1t6,t7,t8	31	0,0410	0,014	33	0,0343	0,012	0,039	0,059
C-18:1t9	31	0,0999	0,024	32	0,0874	0,013	0,011	0,016
C-18:1t10	31	0,0385	0,012	33	0,0352	0,012	0,261	0,292
C-18:1t11	31	0,1499	0,038	33	0,1417	0,040	0,404	0,372
C-18:1t12	31	0,0782	0,023	33	0,0670	0,018	0,033	0,063
C-18:1t13	31	0,0527	0,022	33	0,0436	0,012	0,042	0,204
C-18:1t15	31	0,0330	0,015	32	0,0321	0,012	0,804	0,88
C-18:1c9 (OA)	31	10,6180	1,443	33	10,6345	1,027	0,958	0,653
C-18:1c11	31	1,5357	0,263	33	1,6062	0,199	0,229	0,424
C-18:1c12	31	0,0533	0,023	32	0,0486	0,018	0,359	0,458
C-18:1c13	30	0,1217	0,048	33	0,1237	0,056	0,877	0,836
C-18:2n6 (LA)	31	19,3273	2,114	33	19,7932	2,050	0,374	0,304
C-18:3n6 (GLA)	31	0,0797	0,059	33	0,0638	0,026	0,162	0,835
C-18:3n3 (ALA)	31	0,1879	0,050	33	0,2087	0,074	0,196	0,379
C-20:0	30	0,4874	0,106	33	0,4952	0,108	0,773	0,69
C-20:1c11	31	0,1620	0,032	33	0,1701	0,023	0,247	0,145
C-20:2n6	31	0,2609	0,055	33	0,2979	0,053	0,008	0,008
C-20:3n6	31	2,5512	0,610	33	2,7412	0,598	0,213	0,24
C-20:4n6 (AA)	31	7,1586	1,326	33	7,3913	1,148	0,455	0,379
C-21:0	30	0,0412	0,016	33	0,0353	0,015	0,130	0,076
C-20:4n3	31	0,1160	0,065	33	0,1187	0,060	0,863	0,867
C-20:5n3 (EPA)	30	0,6821	0,305	33	0,5730	0,224	0,109	0,152
C-22:0	31	0,7051	0,102	33	0,6908	0,089	0,552	0,541
C-22:4n6	31	0,2538	0,043	33	0,2557	0,046	0,867	0,793
C-22:5n6	31	0,1500	0,032	33	0,1723	0,052	0,045	0,134
C-22:5n3 (DPA)	30	0,6495	0,104	33	0,6128	0,122	0,205	0,371
C-22:6n3 (DHA)	31	1,9809	0,615	33	1,7463	0,497	0,097	0,089
C-24:0	31	0,6357	0,098	33	0,6488	0,096	0,591	0,783
C24:1c15 (NA)	31	1,2084	0,241	33	1,1797	0,199	0,604	0,752
ΣSFA	31	51,6701	1,798	33	51,1458	1,801	0,249	0,048
ΣMUFA	31	14,9105	1,347	33	14,9199	1,097	0,976	0,783



$\Sigma$ PUFA	31	33,4562	2,202	33	33,9749	2,143	0,343	0,224
$\Sigma$ C-18:1tFS	31	0,5301	0,120	33	0,4885	0,106	0,146	0,156
C-16:0/C-18:1c9	31	3,0859	0,534	33	3,0391	0,348	0,678	0,515
C-16:0/C-18:1ges	31	2,9472	0,506	33	2,9146	0,329	0,760	0,614
$\Sigma$ n3-FS	31	3,6746	0,959	33	3,2596	0,591	0,040	0,082
$\Sigma$ n6-FS	31	29,7816	1,941	33	30,7153	2,097	0,070	0,02
n3-FS/n6-FS	31	0,1238	0,033	32	0,1041	0,016	0,004	0,013
[MCFA C:10-C14]	31	0,5419	0,124	33	0,6032	0,127	0,055	0,075
AA/EPA	31	12,1534	5,593	33	14,7876	6,015	0,075	0,054

Mittelwerte ( $MW$ )  $\pm$  Standardabweichung ( $SD$ ).

$P^1$  -Wert des  $t$ -Tests für unabhängige Stichproben; \*  $p \leq .05$ .

$P^2$  - Wert des Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben \*  $p \leq .05$

## 9.1.4 Sphingomyelin

Tabelle 12: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der SM-Fraktion der Erythrozytenmembran zwischen Patienten und Kontrollen in mol% (komplett)

Fettsäure SM	Patienten (FEP)			Kontrollen (HC)			FEP vs. HC	
	n	MW	SD	n	MW	SD	P <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
C-11:0	25	0,6320	0,783	29	0,7316	0,751	0,636	0,353
C-12:0	26	0,6263	0,408	31	0,4784	0,406	0,177	0,093
C-12:1	26	0,0895	0,062	31	0,0981	0,069	0,627	0,81
C-13:0	25	0,0616	0,032	30	0,0782	0,039	0,098	0,151
C-14:iso	26	0,2857	0,112	31	0,3316	0,151	0,206	0,336
C-14:0	26	1,2344	0,354	31	1,1235	0,323	0,222	0,173
C-15:iso	24	0,0247	0,009	27	0,0237	0,013	0,759	0,559
C-15:aiso	26	0,0662	0,035	31	0,0678	0,038	0,874	0,987
C-15:0	25	0,1886	0,035	31	0,1871	0,045	0,893	0,699
C-16:iso	26	3,3478	1,890	31	3,0849	2,694	0,677	0,194
C-16:0	26	24,3319	1,598	31	24,7164	2,306	0,476	0,761
C-16:1t9	26	0,1049	0,047	31	0,1086	0,041	0,749	0,749
C-16:1c9	25	0,2772	0,080	31	0,3027	0,082	0,245	0,226
C-17:iso	25	0,1774	0,108	31	0,1770	0,101	0,990	0,902
C-17:aiso	26	0,1814	0,047	31	0,1944	0,064	0,392	0,328
C-17:0	26	0,5209	0,049	31	0,5385	0,066	0,265	0,132
C-16:4n1	26	0,0444	0,021	31	0,0478	0,022	0,546	0,597
C-17:1t10	23	0,0319	0,015	28	0,0500	0,029	0,010	0,011
C-17:1c10	26	0,1377	0,093	31	0,2257	0,170	0,022	0,047
C-18:0	25	9,0370	1,271	30	9,4108	1,500	0,329	0,467
C-18:1t9	25	0,0888	0,051	31	0,1213	0,055	0,027	0,021
C-18:1t10	25	0,0719	0,052	31	0,1012	0,048	0,032	0,013
C-18:1t11	21	0,0344	0,026	29	0,0466	0,040	0,227	0,393
C-18:1t12	23	0,0434	0,024	29	0,0674	0,047	0,029	0,067
C-18:1t13	24	0,0397	0,026	31	0,0536	0,024	0,046	0,011
C-18:1t15	24	0,0322	0,014	30	0,0405	0,017	0,058	0,051
C-18:1c9 (OA)	25	2,8549	0,930	31	2,7847	1,210	0,812	0,434
C-18:1c11	23	0,1809	0,109	30	0,2309	0,153	0,190	0,315
C-18:1c13	15	0,3707	0,155	27	0,3671	0,266	0,963	0,52
C-18:2t9,c12	24	0,0145	0,010	30	0,0128	0,011	0,584	0,394
C-18:2n6 (LA)	25	0,8554	0,270	29	0,9011	0,314	0,572	0,55
C-18:3n6 (GLA)	25	0,0077	0,003	30	0,0066	0,003	0,224	0,31
C-18:3n3 (ALA)	25	0,0860	0,035	31	0,0864	0,030	0,960	0,98
CLA:t11,c13	26	0,0786	0,069	29	0,0455	0,031	0,024	0,059
CLA:t9,t11	26	0,0363	0,020	30	0,0346	0,016	0,722	0,895
C-20:0	26	2,1581	0,359	31	2,1215	0,332	0,691	0,835
C-20:1c11	26	0,0566	0,022	31	0,0545	0,019	0,691	0,873
C-20:3n6	23	0,0272	0,026	26	0,0390	0,023	0,099	0,012
C-20:4n6 (AA)	26	0,1230	0,040	30	0,1665	0,086	0,022	0,029
C-21:0	23	0,1081	0,020	28	0,1200	0,030	0,114	0,121
C-22:0	26	6,9566	0,807	31	6,9648	1,030	0,974	0,848

C-22:1c13	26	0,1560	0,040	31	0,1476	0,053	0,509	0,305
C-22:2n6	26	2,5399	1,492	31	2,4112	2,089	0,794	0,249
C-22:4n6	24	0,0496	0,022	30	0,0446	0,017	0,359	0,614
C-22:5n6	17	0,0193	0,016	22	0,0147	0,011	0,297	0,392
C-23:0	26	1,1032	0,138	31	1,1451	0,192	0,357	0,522
C-24:0	25	18,1846	1,560	31	17,7250	2,617	0,443	0,473
C-24:1c15 (NA)	25	20,1828	2,465	31	19,1800	3,498	0,231	0,453
C-25:0	26	0,5485	0,131	31	0,5263	0,112	0,493	0,543
C-26:0	26	1,4684	0,315	31	1,3736	0,310	0,258	0,269
$\Sigma$ SFA	26	71,5115	1,891	31	71,9970	1,989	0,352	0,336
$\Sigma$ MUFA	26	24,4587	2,333	31	24,0007	2,717	0,502	0,665
$\Sigma$ PUFA	26	4,0298	1,579	31	4,0023	2,170	0,957	0,532
$\Sigma$ C-18:1tFS	25	0,3295	0,163	31	0,4332	0,151	0,017	0,005
C-16:0/C-18:1c9	26	9,1815	3,309	31	10,2575	3,572	0,247	0,276
C-16:0/C-18:1ges	26	8,1319	2,648	31	8,6577	2,846	0,476	0,501
$\Sigma$ n3-FS	25	0,0900	0,043	31	0,0929	0,039	0,792	0,811
$\Sigma$ n6-FS	26	3,7648	1,516	30	3,5488	1,829	0,636	0,384
n3-FS/n6-FS	26	0,0290	0,015	31	0,0300	0,017	0,821	0,823
[MCFA C:10-C14]	26	3,1179	1,686	29	2,8616	1,203	0,516	0,893

Mittelwerte ( $MW$ )  $\pm$  Standardabweichung ( $SD$ ).

$P^1$  -Wert des  $t$ -Tests für unabhängige Stichproben; \*  $p \leq .05$ .

$P^2$  - Wert des Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben \*  $p \leq .05$

## 9.1.5 Phosphatidylethanolamin

Tabelle 13: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der PE-Fraktion der Erythrozytenmembran zwischen Patienten und Kontrollen in mol% (komplett)

Fettsäure PE	Patienten (FEP)			Kontrollen (HC)			Signifikanz	
	n	MW	SD	n	MW	SD	P <sup>1</sup>	P <sup>2</sup>
C-12:0	26	0,0667	0,033	31	0,0822	0,050	0,185	0,378
C-14:0	26	0,3723	0,077	31	0,4187	0,148	0,155	0,564
C-15:0	25	0,1559	0,028	30	0,1602	0,033	0,610	0,66
C-16:iso	26	0,0997	0,044	30	0,0985	0,046	0,920	0,87
C-16:0	27	19,8929	1,668	31	19,7560	2,017	0,781	0,518
C-16:1c9	26	0,3583	0,084	30	0,3873	0,108	0,270	0,402
C-18:0	27	10,4938	1,524	32	10,7894	2,051	0,539	0,988
C-18:1t6,t7	27	0,0493	0,027	32	0,0474	0,026	0,778	0,774
C-18:1t9	25	0,1713	0,055	31	0,1730	0,080	0,928	0,515
C-18:1t10	27	0,1337	0,050	32	0,1242	0,058	0,508	0,411
C-18:1t11	28	0,1870	0,034	32	0,1828	0,041	0,668	0,424
C-18:1t12	28	0,0523	0,035	32	0,0468	0,036	0,553	0,374
C-18:1t13	27	0,0477	0,037	32	0,0420	0,031	0,518	0,637
C-18:1t15	27	0,0210	0,018	31	0,0215	0,019	0,917	0,726
C-18:1c9 (OA)	27	20,3943	1,384	31	20,4226	2,148	0,953	0,833
C-18:1c11	28	1,3291	0,265	31	1,3069	0,187	0,709	0,94
C-18:1c13	26	0,3382	0,174	30	0,3029	0,153	0,422	0,543
C-18:2n6 (LA)	28	5,8510	0,803	32	5,9995	0,921	0,511	0,847
C-18:3n6 (GLA)	27	0,0689	0,034	31	0,0591	0,022	0,189	0,518
C-18:3n3 (ALA)	28	0,1518	0,029	32	0,1551	0,032	0,684	0,871
C-20:0	27	0,5708	0,241	31	0,5723	0,235	0,982	0,932
C-20:1c11	28	0,5371	0,093	32	0,5160	0,073	0,331	0,646
C-20:2n6	28	0,2142	0,053	32	0,1914	0,050	0,091	0,045
C-20:3n6	28	1,3591	0,424	32	1,3560	0,394	0,976	0,836
C-20:4n6 (AA)	26	20,6393	1,450	30	21,0127	1,722	0,388	0,264
C-20:5n3 (EPA)	28	1,0784	0,386	32	0,9822	0,323	0,299	0,224
C-22:0	26	0,0911	0,037	29	0,0936	0,038	0,808	0,893
C-22:4n6	26	6,1160	0,772	30	6,1634	0,784	0,821	0,742
C-22:5n6	28	0,5501	0,180	32	0,6340	0,201	0,095	0,066
C-22:5n3 (DPA)	26	3,7434	0,458	32	3,3177	0,861	0,027	0,049
C-22:6n3 (DHA)	28	4,4954	1,403	32	4,5405	1,348	0,900	0,79
C-24:0	26	0,0872	0,041	31	0,1199	0,082	0,071	0,236
C24:1c15 (NA)	26	0,0443	0,025	31	0,0595	0,035	0,070	0,154
ΣSFA	26	31,4246	1,480	30	31,5780	2,478	0,784	0,588
ΣMUFA	27	23,9629	1,683	30	23,4176	1,435	0,192	0,397
ΣPUFA	26	44,8297	1,972	30	45,0044	2,579	0,780	0,384
ΣC-18:1tFS	27	0,6976	0,180	32	0,6578	0,234	0,474	0,148
C-16:0/C-18:1ges	28	0,9498	0,099	32	0,9453	0,106	0,865	0,976

$\Sigma n3\text{-FS}$	26	9,8099	1,395	30	9,4459	1,148	0,289	0,308
$\Sigma n6\text{-FS}$	26	35,0198	1,701	30	35,5585	2,411	0,345	0,097
n3-FS/n6-FS	28	0,2733	0,054	32	0,2596	0,049	0,308	0,254
[MCFA C:10-C14]	26	0,4480	0,117	30	0,4867	0,170	0,332	0,755
AA/EPA	28	19,4229	5,307	32	21,9223	5,652	0,084	0,083

Mittelwerte ( $MW$ )  $\pm$  Standardabweichung ( $SD$ ).

$P^1$  -Wert des  $t$ -Tests für unabhängige Stichproben; \*  $p \leq .05$ .

$P^2$  - Wert des Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben \*  $p \leq .05$

## 9.2 Korrelationsanalyse

### 9.2.1 Gesättigte Fettsäuren

Tabelle 14: Korrelationsanalyse gesättigte Fettsäuren

		Kontrollen		Patienten	
		SM_SFA	PE_SFA	SM_SFA	PE_SFA
TAG_SFA	Korrelation nach Pearson	<b>-,446*</b>	,097	-,101	-,161
	Signifikanz (2-seitig)	<b>,017</b>	,615	,630	,423
	N	28	29	25	27
CE_SFA	Korrelation nach Pearson	,020	-,014	-,016	,018
	Signifikanz (2-seitig)	,916	,942	,937	,928
	N	29	30	26	27
PL_SFA	Korrelation nach Pearson	-,231	<b>,497**</b>	-,228	-,126
	Signifikanz (2-seitig)	,228	<b>,005</b>	,263	,531
	N	29	<b>30</b>	26	27

\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

\*\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

## 9.2.2 Einfach ungesättigte Fettsäuren

Tabelle 15: Korrelationsanalyse einfach ungesättigte Fettsäuren

		Kontrollen		Patienten	
		SM MUFA	PE MUFA	SM MUFA	PE MUFA
TAG_MUFA	Korrelation nach Pearson	,150	,342	,300	<b>,581**</b>
	Signifikanz (2-seitig)	,483	,075	,277	<b>,001</b>
	N	24	28	15	27
CE_MUFA	Korrelation nach Pearson	,126	,159	,145	,152
	Signifikanz (2-seitig)	,540	,401	,607	,439
	N	26	30	15	28
PL_MUFA	Korrelation nach Pearson	,384	,290	,028	,168
	Signifikanz (2-seitig)	,053	,121	,921	,394
	N	26	30	15	28

\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

\*\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

### 9.2.3 Mehrfach ungesättigte Fettsäuren

Tabelle 16: Korrelationsanalyse mehrfach ungesättigte Fettsäuren

		Kontrollen		Patienten	
		SM_PUFA	PE_PUFA	SM_PUFA	PE_PUFA
TAG_PUFA	Korrelation nach Pearson	,003	,261	-,067	,300
	Signifikanz (2-seitig)	,989	,163	,792	,144
	N	20	30	18	25
CE_PUFA	Korrelation nach Pearson	,108	<b>,418*</b>	,085	,347
	Signifikanz (2-seitig)	,649	<b>,022</b>	,730	,076
	N	20	<b>30</b>	19	27
PL_PUFA	Korrelation nach Pearson	-,015	<b>,509**</b>	,119	,293
	Signifikanz (2-seitig)	,951	<b>,004</b>	,629	,138
	N	20	<b>30</b>	19	27

\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

\*\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

## 9.2.4 Omega-6-Fettsäuren

Tabelle 17: Korrelationsanalyse Omega-6-Fettsäuren

		Kontrollen		Patienten	
		SM_Omega-6	PE_Omega-6	SM Omega-6	PE Omega-6
TAG_Omega-6	Korrelation nach Pearson	,057	,216	-,197	,283
	Signifikanz (2-seitig)	,810	,252	,420	,153
	N	20	30	19	27
CE_Omega-6	Korrelation nach Pearson	,022	<b>,433*</b>	,122	,337
	Signifikanz (2-seitig)	,925	<b>,017</b>	,619	,085
	N	20	30	19	27
PL_Omega-6	Korrelation nach Pearson	-,113	<b>,579**</b>	,068	,226
	Signifikanz (2-seitig)	,636	<b>,001</b>	,784	,257
	N	20	30	19	27

\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

\*\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.



## 9.2.5 Omega-3-Fettsäuren

Tabelle 18: Korrelationsanalyse Omega-3-Fettsäuren

		Kontrollen	Patienten
		PE_Omega-3	PE_Omega-3
TAG_Omega-3	Korrelation nach Pearson	<b>,530**</b>	<b>,442*</b>
	Signifikanz (2-seitig)	<b>,003</b>	<b>,027</b>
	N	30	25
CE_Omega-3	Korrelation nach Pearson	<b>,513**</b>	<b>,491**</b>
	Signifikanz (2-seitig)	<b>,004</b>	<b>,009</b>
	N	30	27
PL_Omega-3	Korrelation nach Pearson	<b>,574**</b>	<b>,593**</b>
	Signifikanz (2-seitig)	<b>,001</b>	<b>,001</b>
	N	30	27

\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

\*\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

## 9.2.6 Transfettsäuren

Tabelle 19: Korrelationsanalyse Transfettsäuren

		Kontrollen		Patienten	
		SM_tFA	PE_tFA	SM_tFA	PE_tFA
TAG_tFA	Korrelation nach Pearson	,142	<b>,490**</b>	,099	,313
	Signifikanz (2-seitig)	,518	<b>,007</b>	,686	,113
	N	23	29	19	27
CE_tFA	Korrelation nach Pearson	,358	,032	,033	-,082
	Signifikanz (2-seitig)	,079	,863	,891	,678
	N	25	31	20	28
PL_tFA	Korrelation nach Pearson	,116	,342	,200	,085
	Signifikanz (2-seitig)	,582	,059	,399	,666
	N	25	31	20	28

\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

\*\*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

## 9.3 Parameterdaten der Gaschromatographen

### 9.3.1 GC-3

Gerät:	SHIMADZU GC 17A	
Autosampler:	AOC 5000, SHIMADZU	
Software:	GC Lab Solution	
Säule:	DB 225MS	
	Länge:	60 m
	Innendurchmesser:	0.25 mm
	Filmdicke:	0.25 µm
Parameter:	Trärgas:	H <sub>2</sub>
	V <sub>lin</sub> (cm/sek):	42.3
	Brennergas:	H <sub>2</sub> , Luft
	Injektortemperatur (°C):	260
	Injektionsvolumen ( µl):	1.0
	Injektionsmodus:	Split
	Split Ratio:	1:100
	Detektor:	FID
	Detektortemperatur ( °C):	270
	Programmdauer ( min):	70

*Tabelle 20: GC-3 Temperaturprogramm*

Rate (°C/min )	Temp. (°C )	Hold Time (min )
-	70	2.0
10	180	0.0
2.0	220	5.0
2.0	230	27.0

*Tabelle 21: GC-3 Druckprogramm*

Rate ( kPa/min )	Pressure (kPa )	Hold Time ( min )
-	136	2.0
2.7	166	0.0
0.5	176	5.0
0.5	178	27.0

### 9.3.2 GC-4

Gerät:	SHIMADZU 2010	
Autosampler:	AOC 5000, SHIMADZU	
Software:	GC Lab Solution	
Säule:	CP Select for FAME	
	Länge:	200 m
	Innendurchmesser:	0.25 mm
	Filmdicke:	0.25 µm
Parameter:	Trärgas:	H <sub>2</sub>
	V <sub>lin</sub> (cm/sek):	35.2
	Brennergas:	H <sub>2</sub> , Luft
	Injektortemperatur (°C):	260
	Injektionsvolumen ( µl )::	1.0
	Injektionsmodus:	Split
	Split Ratio:	1:100
	Detektor:	FID
	Detektortemperatur ( °C ):	270
	Programmdauer ( min ):	83

Tabelle 22: GC-4 Temperaturprogramm

Rate (°C/min )	Temp. (°C )	Hold Time (min )
-	171	60
25	250	20

Druck: Isobar 495.1 kPa

## 9.4 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. S. Smesny für die Überlassung des Themas und die Ermöglichung dieser Dissertation. Ich danke ihm besonders für die tatkräftige wissenschaftliche und fachliche Unterstützung in jeder Phase der Arbeit, für hilfreiche Ratschläge und Diskussionen sowie für eine geduldige und sehr angenehme Betreuung während des gesamten Zeitraumes der Promotion.

Danken möchte ich Herrn Prof. Dr. habil G. Jahreis, dem Leiter des Lehrstuhls für Ernährungsphysiologie an der FSU Jena für die Möglichkeit der Durchführung der Probenanalytik an seinem Institut.

Frau Dr. K. Kuhnt danke ich vielmals für die ausgezeichnete Einarbeitung in die erforderlichen Arbeitsschritte im Labor und bei der ganzen Arbeitsgruppe des Lehrstuhls für Ernährungsphysiologie, die mich so offen und freundlich aufgenommen hat.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. M. Walther für seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung danken.

Ein großer Dank geht natürlich an meine Familie und an meine Freunde für die notwendige Ablenkung zwischendurch.

Und zu guter Letzt möchte ich besonders meiner Freundin Maria und meinem Sohn Oskar danken, ohne sie wäre die Fertigstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

.

## 9.5 Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Allgemeine Diagnosekriterien von Schizophrenien nach ICD-10</i> .....	8
<i>Tabelle 2: Zusammensetzung der Studiengruppen</i> .....	24
<i>Tabelle 3: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der TAG-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol%</i> .....	36
<i>Tabelle 4: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der CE-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol%,</i> .....	37
<i>Tabelle 5: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der PL-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol%</i> .....	38
<i>Tabelle 6: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der SM-Fraktion der Erythrozytenmembran zwischen Patienten und Kontrollen in mol%</i> .....	40
<i>Tabelle 7: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der PE-Fraktion der Erythrozytenmembran zwischen Patienten und Kontrollen in mol%</i> .....	41
<i>Tabelle 8: Interpretation des Korrelationskoeffizienten nach Pearson</i> .....	43
<i>Tabelle 9: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der TAG-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol% (komplett)</i> .....	68
<i>Tabelle 10: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der CE-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol% (komplett)</i> .....	70
<i>Tabelle 11: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der PL-Fraktion des Plasmas zwischen Patienten und Kontrollen in mol% (komplett)</i> .....	72
<i>Tabelle 12: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der SM-Fraktion der Erythrozytenmembran zwischen Patienten und Kontrollen in mol% (komplett)</i> .....	74
<i>Tabelle 13: Mittelwertvergleich der Fettsäurekonzentrationen in der PE-Fraktion der Erythrozytenmembran zwischen Patienten und Kontrollen in mol% (komplett)</i> .....	76
<i>Tabelle 14: Korrelationsanalyse gesättigte Fettsäuren</i> .....	77
<i>Tabelle 15: Korrelationsanalyse einfach ungesättigte Fettsäuren</i> .....	78
<i>Tabelle 16: Korrelationsanalyse mehrfach ungesättigte Fettsäuren</i> .....	79
<i>Tabelle 17: Korrelationsanalyse Omega-6-Fettsäuren</i> .....	80
<i>Tabelle 18: Korrelationsanalyse Omega-3-Fettsäuren</i> .....	81
<i>Tabelle 19: Korrelationsanalyse Transfettsäuren</i> .....	82
<i>Tabelle 20: GC-3 Temperaturprogramm</i> .....	83
<i>Tabelle 21: GC-3 Druckprogramm</i> .....	83
<i>Tabelle 22: GC-4 Temperaturprogramm</i> .....	84

## 9.6 Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Entwicklungsabschnitte der schizophrenen Psychose, .....</i>	<i>10</i>
<i>Abbildung 2: chemische Struktur der Phospholipide,.....</i>	<i>15</i>
<i>Abbildung 3: chemische Struktur der Sphingolipide, .....</i>	<i>16</i>
<i>Abbildung 5: Die Hauptfamilien der mehrfach ungesättigten Fettsäuren und deren Metabolisierung, nach Kalish et al. 2012.....</i>	<i>21</i>
<i>Abbildung 6: Studienaufbau .....</i>	<i>24</i>
<i>Abbildung 7: Dünnschichtchromatogramm des Plasmalipidextraktes (Reihen 1 und 2) und eines Standardlipidgemisches (Reihe 3) durch Dünnschichtchromatographie mit einem Laufmittelgemisch aus 70 ml Hexan, 30 ml Diethylether und 1 ml Eisessig. CE=Cholesterinester, TAG=Triacylglycerine, FFS=freie Fettsäuren, C=Cholesterin, PL=Phospholipide.....</i>	<i>29</i>
<i>Abbildung 8: Dünnschichtchromatogramm des Erythrozytenlipidextraktes (Reihen 1 und 6) und eines Standardphospholipid- bzw. Standardlipidgemisches (Reihen 2-5) durch Dünnschichtchromatographie mit einem Laufmittel aus 50 ml Chloroform, 37,5 ml Methanol, 3,5 ml Eisessig und 2 ml destilliertem Wasser. PE=Phosphatidylethanolamin, PI=Phosphatidylinositol, PS=Phosphatidylserin, PC=Phosphatidylcholin, SM=Sphingomyelin .....</i>	<i>30</i>
<i>Abbildung 8: Der Arachidonsäurestoffwechsel, Quelle: <a href="http://www.andersenchiro.com/images/Arachidonic-Acid-Cascade-Pathway.gif">http://www.andersenchiro.com/images/Arachidonic-Acid-Cascade-Pathway.gif</a> .....</i>	<i>49</i>

## **9.7 Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich,

dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich- Schiller- Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Prof. Dr. med. S. Smesny, Dr. K. Kuhnt,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Chemnitz, 18.12.2019

Christian Fleischer